



UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

Dirofilariose cardiopulmonar em canídeos domésticos - estudo clínico e retrospectivo,  
situação em Portugal

Fábio Jorge Costa Cunha

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor José Augusto Farraia e Silva Meireles

Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho

Mestre Telmo Renato Landeiro Pina Nunes

ORIENTADOR:

Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho

CO-ORIENTADOR:

Dr. Luís Miguel do Amaral Cruz

2019

LISBOA

---





UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

Dirofilariose cardiopulmonar em canídeos domésticos - estudo clínico e retrospectivo,  
situação em Portugal

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

Fábio Jorge Costa Cunha

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor José Augusto Farraia e Silva Meireles

Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho

Mestre Telmo Renato Landeiro Pina Nunes

ORIENTADOR:

Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho

CO-ORIENTADOR:

Dr. Luís Miguel do Amaral Cruz

2019

LISBOA

---

## **Agradecimentos**

Ao Professor Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho, por ter aceite ser meu orientador, por todos os conhecimentos e conselhos transmitidos e por toda a sua amizade e disponibilidade.

Ao Dr. Luís Miguel do Amaral Cruz, por todos os ensinamentos e experiência clínica transmitidos ao longo do meu estágio curricular.

À Dra. Ana Maldonado, por me ter recebido e ter proporcionado a realização do meu estágio curricular e por toda a sua gentileza e simpatia em qualquer dificuldade que possa ter surgido.

A toda a equipa do Hospital Veterinário das Laranjeiras, pela receção calorosa e pela paciência que sempre demonstraram.

Ao Dr. Ricardo Vintém, por me ter proporcionado a realização da parte técnica da tese de mestrado na Clínica Veterinária PrimaVet e por toda a sua disponibilidade e ensinamentos.

À Dra. Inês Bettencourt, por toda a paciência, amizade, ensinamentos, disponibilidade e orientação tanto na parte clínica como na realização da tese de mestrado.

Ao Dr. Jorge Lopes, Dr. Pedro Victor e a CAMPIFARMA, por toda a simpatia e disponibilidade, bem como pela cedência dos kits de diagnóstico indispensáveis à realização desta dissertação.

Aos meus pais, Dulce Cunha e Armando Cunha, por me apoiarem em todas as etapas da minha vida e por me terem permitido a realização deste meu sonho de ser Médico Veterinário.

Ao meu irmão Ricardo Cunha, pela companhia e força que transmitiu.

Ao Gonçalo Morgado, por toda a amizade, orientação, paciência e, acima de tudo, pela motivação que me transmitiu sempre que precisava.

À Carolina Sales, por todo o carinho e apoio que me deu, mesmo nos piores momentos.

À Cindy, Nina, Rita, Princesa, Simba e Spark por todas as razões e motivação que me deram para não desistir.

## **Resumo**

### **Dirofilariose cardiopulmonar em canídeos domésticos - estudo clínico e retrospectivo, situação em Portugal**

A dirofilariose cardiopulmonar (DCP) é causada pelo nemátode *Dirofilaria immitis*, transmitido por vetores (mosquitos culicídeos) e é capaz de infetar uma grande variedade de hospedeiros, sendo os seus alvos preferenciais, canídeos domésticos e selvagens. Em Portugal, a espécie *D. immitis* é endémica e tem grande relevância no panorama nacional, especialmente nas bacias fluviais do Tejo, Douro, Sado, Mondego e na região autónoma da Madeira.

Os objetivos deste estudo foram a determinação da prevalência de *D. immitis* em cães com proprietário no concelho de Sintra, avaliar os fatores de risco que possam estar associados à sua transmissão e os protocolos de prevenção que eram praticados nos cães submetidos a este estudo. O estudo consistiu na recolha de amostras sanguíneas de 50 cães, que foram analisadas com recurso a testes rápidos Uranteste® *Dirofilaria* e ao teste de Knott modificado, para pesquisa da presença de dirofilárias adultas e microfilárias, respetivamente. Foram também preenchidos presencialmente 50 inquéritos pelos proprietários dos animais que participaram no presente estudo.

Neste estudo não foram detetados animais positivos à DCP pelos dois métodos de deteção utilizados. Em relação a comportamentos de risco, 12%(6/50) dos animais vivia permanentemente em quintal, 16%(7/44) dos inquiridos passeava o seu animal em zonas com cursos de água, 93,2%(41/44) fazia-o em período noturno e 81,8%(35/44) dos animais contactava com animais fora do ambiente familiar e de estatuto sanitário desconhecido. Dos animais que entraram no estudo, apenas 28%(14/50) não fazia prevenção contra a DCP. No entanto, os proprietários que a faziam, utilizavam um protocolo que se encontra no limiar do aconselhado pela maioria dos autores para a desparasitação interna (4 vezes ao ano). No entanto, o recomendado pelo European Scientific Counsel Companion Animal Parasites (ESCCAP) para prevenção de *D. immitis* é um tratamento mensal.

Tendo em conta que existe ainda hoje uma grande proporção de tutores que não tem informação, nem conhecimento, sobre protocolos eficazes contra doenças parasitárias, é de extrema importância, especialmente se estivermos a falar de doenças de carácter zoonótico, que sejam criadas medidas para que as pessoas tenham melhor e mais fácil acesso à informação. Com este objetivo em mente, é necessário contar com a colaboração do médico veterinário, presencialmente, para que este tenha um papel ativo durante a consulta em matérias de desparasitação, mas também ao referenciar plataformas digitais que contenham essa informação para consulta gratuita, como é o caso do site da ESCCAP a nível europeu.

#### **Palavras chave:**

*Dirofilaria immitis*, dirofilariose cardiopulmonar, vetores, protocolos de prevenção, fatores de risco, tutores, cães, inquérito, Sintra, Portugal.



## **Abstract**

### **Cardiopulmonary Dirofilariosis in domestic dogs- a clinical and retrospective study**

Heartworm disease (HWD) is caused by a nematode of the species *Dirofilaria immitis*, which is transmitted by vectors (Culicidae mosquitoes) and is capable of infecting a wide variety of hosts, with its preferential targets being both domestic and wild dogs. In Portugal, *D. immitis* is endemic and has a great relevance in the national panorama, especially in the river basins of Tejo, Douro, Sado and Mondego and in the autonomous region of Madeira.

The goals of this study were to determine the prevalence of *D. immitis* in dogs with owner in the county of Sintra, evaluate the risk factors that might be associated with its transmission and the preventive protocols that were practiced in the dogs included in this study. This research consisted in the collection of blood samples from 50 dogs, which were analyzed using Uranoteste® *Dirofilaria* rapid tests and modified Knott test for assessing the presence of adult heartworms and microfilariae, respectively. The 50 animal owners who participated in this study also answered a face-to-face questionnaire. There were no heartworm positive animals in this study using both detection methods. In relation to the risk behaviors, 12% (6/50) of the animals lived permanently in the backyard, 16% (7/44) of the owners said that they walked with their animals in areas with water courses, 93.2% (41/44) walked at night, 81.8% (35/44) of the animals were in contact with animals outside family environment and of unknown health status. Of all the animals in this study, only 28% (14/50) did not have any prevention against HWD, although those who did, used a protocol at the threshold of the suggested by most authors for internal parasite deworming (4 times a year). However, being European Scientific Counsel Companion Animal Parasites (ESCCAP) recommends a monthly preventive treatment for *D. immitis*.

If we take in consideration that a large number of people who does not have neither the information, nor the knowledge, regarding effective protocols against parasitic diseases, it is of paramount importance, especially if we are talking about zoonotic diseases, that measures are taken, so that the population has better and easier access to information. With this objective in mind, it is necessary to rely on the veterinarian's cooperation, personally, so that he can have an active role during the medical consultation on the deworming subject, but also when referring to digital platforms containing free, reliable and independent information, for later consultation, like the ESCCAP site at the European level .

### **Keywords:**

*Dirofilaria immitis*, cardiopulmonary dirofilariosis, vectors, preventive protocols, risk factors, tutors, dogs, survey, Sintra, Portugal.



## Índice

Resumo.....	iii
Abstract.....	iv
Lista de figuras.....	vii
Lista de tabelas.....	vii
Lista de gráficos.....	viii
Lista de Abreviaturas, Siglas e Símbolos.....	ix
Atividades desenvolvidas durante o estágio.....	1
I- Revisão Bibliográfica.....	3
1. Introdução.....	3
2. Etiologia e Taxonomia.....	4
3. Ciclo Biológico.....	6
4. Epidemiologia.....	8
5. Prevenção.....	14
6. Tratamento.....	19
7. Diagnóstico.....	24
II- Dirofilariose Cardiopulmonar em Canídeos Domésticos - Estudo clínico e Retrospectivo.....	29
1. Objetivos do Estudo.....	29
2. Material e Métodos.....	30
2.1. Caracterização do local, da população canina e do clima no período da amostragem.....	30
2.2. Constituição e caracterização da amostra.....	30
2.3. Colheita e processamento da amostra.....	30
2.4. Métodos laboratoriais.....	31
2.4.1. Uranoteste Dirofilaria.....	31
2.4.2. Teste de Knott modificado.....	31
2.5. Inquérito.....	32
2.6. Processamento dos resultados e análise de dados.....	32
3. Resultados.....	32
3.1. Inquérito.....	32
3.1.1. Identificação do animal.....	32
3.1.2. Caracterização da vida do animal.....	34
3.1.3. Características, frequência e hábitos de passeio dos animais.....	35
3.1.4. Conhecimento sobre Dirofilariose.....	37
3.1.5. Hábitos de desparasitação.....	38

3.2. Resultados Laboratoriais.....	40
3.2.1. Uranoteste Dirofilaria.....	40
3.2.2. Teste de Knott modificado.....	41
III- Discussão.....	41
1. Inquérito.....	41
1.1 Identificação do animal.....	41
1.2. Características da vida do animal.....	42
1.3. Características, frequência e hábitos de passeio dos animais.....	42
1.4. Conhecimento sobre a Dirofilariose.....	43
1.5. Hábitos de desparasitação.....	44
1.6. Protocolos de prevenção.....	44
2. Prevalência de <i>D. immitis</i> .....	45
IV- Conclusão.....	48
V- Recomendação e perspetivas futuras.....	50
Bibliografia.....	52
Anexo 1 - Inquérito.....	62
Anexo 2 - Método do Uranoteste Dirofilaria.....	65

## Lista de figuras

Figura 1 - Mosquitos <i>Aedes</i> e <i>Culex</i> .....	5
Figura 2 - Coração com <i>D. immitis</i> em formol.....	5
Figura 3 - Ciclo de vida da <i>D. immitis</i> no cão.....	6
Figura 4 - L3 de <i>D. immitis</i> a projetar-se para fora do probóscide de um mosquito.....	6
Figura 5 - <i>D. immitis</i> adultas no lado direito do coração.....	7
Figura 6 - Distribuição da <i>D. immitis</i> na Europa.....	12
Figura 7 - Esquema que demonstra a patogénese da disfunção cardíaca na síndrome da veia cava.....	22
Figura 8 - Remoção cirúrgica de <i>D. immitis</i> adultas do ventrículo direito.....	23
Figura 9 - Microfilárias de <i>D. immitis</i> e <i>Acanthocheilonema reconditum</i> . A microfilária de <i>A. reconditum</i> tem menor diâmetro que a de <i>D. immitis</i> .....	27
Figura 10 - Radiografias lateral e dorsoventral de um Pastor Alemão com dirofilariose em fase avançada. É visível o alargamento das artérias pulmonares, especialmente na radiografia dorsoventral.....	28
Figura 11 - Imagem ecográfica de um cão com dirofilariose em estado grave. Pode ver-se a dilatação da principal artéria pulmonar.....	28

## Lista de tabelas

Tabela 1 - Distribuição por raças.....	33
Tabela 2 - Distribuição das frequências de passeios diários.....	36
Tabela 3 - Distribuição do período dos passeios.....	36
Tabela 4 - Distribuição quanto à frequência de desparasitação.....	40

## Lista de gráficos

Gráfico 1 - Distribuição dos indivíduos por sexo.....	33
Gráfico 2 - Distribuição de indivíduos de acordo com o comprimento do pelo.....	34
Gráfico 3 - Distribuição quanto à coabitação com outros animais.....	34
Gráfico 4 - Distribuição quanto ao modo de vida.....	35
Gráfico 5 - Distribuição quanto às idas à rua.....	35
Gráfico 6 - Distribuição quanto ao contacto com outros animais.....	37
Gráfico 7 - Distribuição quanto ao conhecimento sobre dirofilariose.....	37

Gráfico 8 - Distribuição quanto ao conhecimento sobre a capacidade zoonótica de dirofilariose.....	38
Gráfico 9 - Distribuição quanto à desparasitação contra dirofilariose.....	39
Gráfico 10 - Distribuição quanto ao uso de coleira desparasitante.....	39
Gráfico 11 - Distribuição quanto ao motivo que levou os donos dos cães a desparasitar.....	40

## Lista de abreviaturas, siglas e símbolos

% - Percentagem

°C - Grau Celsius

µm - Micrómetro

µg - Micrograma

AHS - American Heartworm Society

BID - Bis in die (duas vezes ao dia)

cm - Centímetro

CAMV - Centro de Atendimento Médico Veterinário

CAPC- Companion Animal Parasite Council

CPEP- Canadian Parasitology Expert Panel

CO<sub>2</sub> - Dióxido de carbono

CVM - Center for Veterinary Medicine

*D. immitis* - *Dirofilaria immitis*

*D. repens* - *Dirofilaria repens*

EDTA - Ethylenediamine tetraacetic acid

ESCCAP- European Scientific Counsel Companion Animal Parasites

EUA- Estados Unidos da América

FDA - Food and Drug Administration

FMV-UL - Faculdade de Medicina Veterinária- Universidade de Lisboa

g - grama

IPMA- Instituto Português do Mar e da Atmosfera

Kg - quilograma

L1- Larva de primeiro estágio

L2- Larva de segundo estágio

L3- Larva de terceiro estágio

L4- Larva de quarto estágio

L5- Larva de quinto estágio

m - metro

mg - miligrama

mm - milímetro

km<sup>2</sup> - quilómetro quadrado

ml - mililitro

PCR - Polymerase Chain Reaction

PO - *Per os* (via oral)

SC - Subcutâneo

SID - *Semel in die* (uma vez ao dia)

SPAD - Sociedade Protectora dos Animais Domésticos



### **Atividades desenvolvidas durante o estágio**

Para concluir esta dissertação, através da recolha de dados necessários para o seu estudo, foram realizados 2 estágios: um estágio curricular no Hospital Veterinário das Laranjeiras, sob orientação científica do Dr. Luís Cruz (de 15 de Fevereiro de 2017 até 15 de Agosto de 2017) e um outro estágio na Clínica Veterinária Primavet, sob orientação do Dr. Ricardo Vintém e da Dra. Inês Bettencourt (de Dezembro de 2017 a Março de 2018).

No estágio curricular, as actividades desenvolvidas, apesar de muito variadas, podem ser divididas em 4 grupos: consultas de medicina interna, internamento, imagiologia e cirurgia. Nas consultas, era permitido ao autor iniciar as mesmas, elaborar a história pregressa e realizar o exame físico do animal. O caso clínico deveria ser transmitido ao médico veterinário responsável pela consulta e, posteriormente, seriam discutidos possíveis diagnósticos diferenciais, os exames complementares a realizar e, mais tarde, as terapêuticas adequadas. Foi possível assistir e participar em consultas gerais, consultas de especialidade e consultas de referência. Ainda nas consultas, foi possível a realização de vários procedimentos clínicos como preparação e administração de vacinas, colocação de microchip, colocação de cateteres endovenosos, recolha de sangue para análises hematológicas, bioquímicas ou para envio externo, medição de pressão arterial, algalias, videoscopias, raspagens cutâneas, PAAF (punção aspirativa por agulha fina), citologias, biópsias e electrocardiogramas.

No internamento, o autor tinha à sua responsabilidade os animais internados e competia-lhe administrar a medicação presente na ficha de internamento de cada animal, monitorizar regularmente os parâmetros vitais dos animais, cuidar da alimentação dos animais, assim como da higiene dos mesmos e das boxes, passear os animais ao exterior e preparar os animais tanto para internamento como para receberem alta clínica. Além disto, o autor participava também na discussão diária de casos clínicos numa reunião geral às 9h da manhã, à hora de almoço e na passagem de casos clínicos a outros estagiários.

No serviço de imagiologia, houve oportunidade de participar na realização de radiografias, efectuando o posicionamento dos animais, a selecção de constantes e a interpretação das imagens radiográficas obtidas. O autor assistiu também à realização e interpretação de ecografias abdominais e ecocardiográficas.

Em cirurgia, foi possível participar na avaliação e preparação cirúrgica dos animais pela administração pré-anestésica e sua indução, colocação de catéter e tubo endotraqueal, tricotomia, limpeza e desinfecção da zona da incisão. Na cirurgia propriamente dita, foram desempenhadas várias actividades como monitorização anestésica, papel de circulante, cirurgião auxiliar e fecho de suturas no fim da cirurgia. No pós-operatório, o autor efectuou a avaliação de riscos pós-cirúrgicos e os cuidados no recobro, incluindo a remoção de pontos cirúrgicos, pensos simples ou mais complexos e, por vezes, fisioterapia.

No segundo estágio realizado foi também possível a realização de actividades incluídas nos quatro grupos acima referidos: consultas, internamento, imagiologia e cirurgia. Além destas, foi possível proceder à recolha e análise dos dados usados nesta dissertação, colheita de amostras de sangue e o inquérito aos tutores. Esta colheita, que era efetuada no fim das consultas, perguntando ao tutor do animal se estaria interessado que o seu animal participasse no estudo em questão. Enquanto se esperava o resultado do teste rápido o dono era entrevistado para o inquérito .

Toda a prática clínica descrita permitiu ao autor desta dissertação não só pôr em prática, consolidar e melhorar os conhecimentos e aptidões obtidos durante o seu percurso académico, mas também obter novos conhecimentos que complementaram os já adquiridos.



## I - Revisão Bibliográfica

### 1. Introdução.

Nos dias de hoje, as alterações climáticas, a globalização do comércio, o crescente número de migrações, tanto de pessoas como de animais, e o aumento de resistência dos vetores e respetivos agentes patogénicos aos fármacos antiparasitários, têm surgido como as principais causas para a constante expansão das doenças transmitidas por vetores a nível mundial a que temos assistido (Otranto et al, 2009). A maioria destas doenças infecciosas emergentes (60,3%) são consideradas zoonóticas, tendo o seu impacto vindo a aumentar, devido ao constante crescimento da população e do seu desenvolvimento socioeconómico que promove o alastramento das áreas em que estas doenças estavam restritas. Paralelamente, tem havido um esforço a nível mundial para que ocorram avanços nos métodos de diagnóstico, de modo a que acompanhem o crescimento do impacto destas doenças na saúde pública, permitindo assim avaliar melhor o seu potencial zoonótico (Torgerson and Macpherson, 2011).

Falando especificamente de dirofilariose, na última década, o perfil epidemiológico desta tem consistido numa crescente prevalência dos casos em todo o mundo, tanto em humanos como em animais, demonstrando grande evidência que esta parasitose zoonótica está a tornar-se um sério problema de saúde pública, pois começam a ser registados casos em zonas que eram consideradas livres do parasita, como aconteceu no centro e norte da Europa (Simon et al, 2012; Morchón et al, 2012).

A doença é causada pela presença de nemátodes filarídeos do género *Dirofilaria immitis*, transmitidos pela picada de mosquitos Culicidae, ficando estes nematodes localizados principalmente nas artérias pulmonares e no ventrículo direito (Beugnet et al, 2018). Das duas espécies até agora identificadas nos carnívoros, *D. immitis* é a que apresenta maior relevância (Taylor et al, 2016). A DCP causada por esta espécie e pelos seus antigénios, é dotada de uma progressão crónica e marcada por uma diversidade de sinais clínicos que podem ir desde a intolerância ao exercício, tosse ou mesmo ausência de qualquer sinal até ao desenvolvimento tanto de uma insuficiência cardíaca como pela progressão para problemas cardiorespiratórios e de outros sinais como disfunção renal e glomerulonefrite (Alho, 2017).

A presença de *D. immitis* canina constitui um risco para a população humana, provocando, nos humanos, dirofilariose pulmonar (Simón et al, 2005). A infeção de *D. immitis* em humanos é comumente caracterizada pela presença de formas imaturas no interior de nódulos localizados nos pulmões (Narine et al, 1999). A dirofilariose encontra-se com estatuto endémico nos países do sul da Europa (principalmente Portugal, Espanha, Grécia, sul de França e Itália), no continente americano, na Oceânia, Ásia e África (Marks and Bloomfield, 1998; Polizopoulou et al, 2000; Song et al, 2003).

Existem, atualmente, várias associações internacionais que providenciam à comunidade médico-veterinária informação detalhada, completa e de forma gratuita, não só para se compreender os fatores de risco de dirofilariose, mas também para se saber como controlar esses mesmos riscos da forma mais eficaz. Entre outras, podemos destacar a European Scientific Counsel Companion Animal Parasites (ESCCAP), <https://www.esccap.org>, a American Heartworm Society (AHS), <https://www.heartwormsociety.org>, o Canadian Parasitology Expert Panel (CPEP) e o Companion Animal Parasites Counsel (CAPC) também dos EUA, <https://capcvet.org>. Apenas fica a faltar um meio de transmissão que consiga aproximar estas directrizes dos proprietários dos animais.

Tendo o médico veterinário um papel crucial na prevenção da transmissão de doenças como a dirofilariose, principalmente com os animais que segue em consulta, é de primordial importância que sejam efetuados estudos que visem não só avaliar os fatores de risco, como detetar a prevalência, avaliar protocolos e apurar o conhecimento da população para a dirofilariose.

Contudo, apesar de haver esforços tanto ao nível da prevenção e tratamento de dirofilariose, bem como no controlo de vetores, esta doença tem vindo a expandir-se para áreas onde, até então, não tinha sido documentada (Simon et al, 2009).

Nesta dissertação de mestrado vão ser abordados os seguintes aspetos: quais os comportamentos de risco dos cães com proprietário no concelho de Sintra, os hábitos de desparasitação contra a dirofilariose, a sua prevalência, a sua importância na saúde pública, o seu impacto na vida dos cães e dos humanos, o que várias organizações internacionais, como por exemplo a ESCCAP, consideram como fatores de risco para a transmissão de dirofilariose e quais os protocolos de desparasitação aconselhados.

## **2. Etiologia, taxonomia**

A dirofilariose é uma doença parasitária causada pelo nemátode *Dirofilaria immitis* (também conhecido como verme do coração) que pertence ao filo Nematoda, classe Secernentea, ordem Spirurida Superfamília Filarioidea, Família Onchocercidae (Taylor et al, 2016; CVBD, 2018).

Os primeiros relatos de dirofilariose datam desde há vários séculos, sendo que a primeira referência foi feita em 1626 por Birago na Itália. No entanto, só em 1856 foi descrita a sua morfologia por Leidy (Alho et al, 2014).

Os nemátodes do género *Dirofilaria* utilizam como vetores os mosquitos da família Culicidae (*Culex*, *Aedes* e *Anopheles*) e são capazes de infetar uma grande diversidade de animais, sendo que, atualmente, já foram descritas mais de 70 espécies de mosquitos capazes de propagar a infeção (Leite et al, 2006; Cancrini e Gabrielli, 2007; McCall et al, 2008a; ESCAPP, 2017) (Fig. 1).

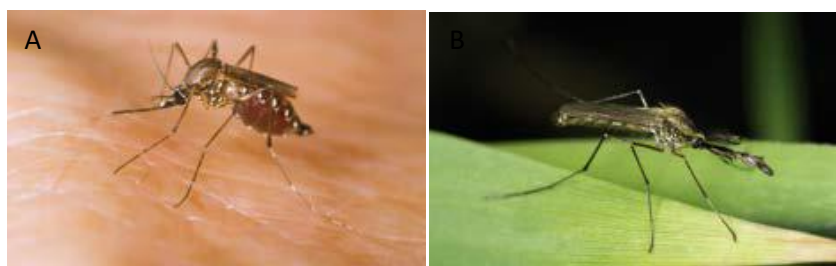


Figura 1 - Mosquitos *Aedes* (A) e *Culex* (B) (Fonte: Beugnet et al, 2018)

Uma das principais características dos mosquitos da família Culicidae é o facto de medirem 2 a 10 mm de comprimento e de possuírem apenas 2 asas. Somente as fêmeas apresentam comportamento hematófago. A sua técnica de localização de presas para se alimentarem baseia-se no recurso a estímulos químicos e térmicos, sendo que é após a refeição que as fêmeas efetuam a postura dos ovos na superfície da água (Alho et al, 2014).

Um dos primeiros trabalhos realizados em solo português na pesquisa de vetores de filarídeos, permitiu identificar espécimes de *D. immitis* na região da Comporta em 2 fêmeas de *Culex theylleri* (Landum, 2012).

A nível mundial, as duas espécies mais importantes são *D. immitis* e *D. repens*. *D. immitis* é responsável pela dirofilariose cardiopulmonar em canídeos, felídeos e humanos e *D. repens* é causadora de dirofilariose subcutânea em canídeos e felídeos e da forma subcutânea e ocular em humanos (Alho et al, 2014).

Das duas espécies, *D. immitis* é sem dúvida a que tem maior importância médico-veterinária. Esta parasita cães e gatos domésticos (estes últimos ocasionalmente), canídeos selvagens (raposas, lobos, coiotes, furões), cavalos, leões-marinhos, castores, e, mais raramente, humanos e primatas, sendo o seu local de eleição o sistema cardiovascular, mais particularmente o ventrículo e átrio direitos, artéria pulmonar e veia cava posterior (Alho et al, 2014; Taylor et al, 2016) (Fig. 2).

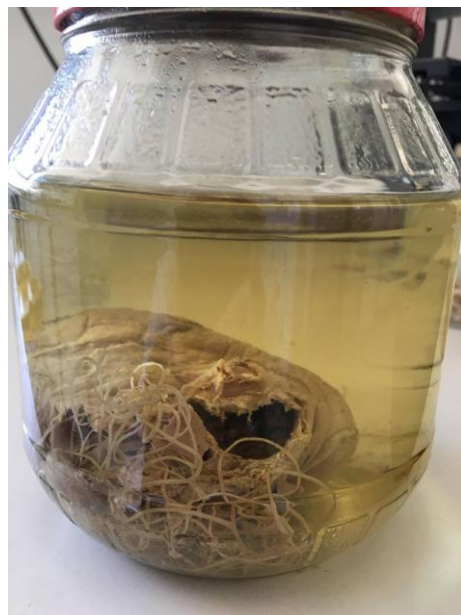


Figura 2 - Coração com *D. immitis* em formol (Fonte: foto original de Carolina Sales, material cedido pelo Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias da FMV-ULisboa).

### 3. Ciclo biológico

O ciclo de vida de *Dirofilaria immitis* é constituído por 5 estádios larvares, sendo que três localizam-se num hospedeiro intermediário (artrópode da família Culicidae) e os restantes dois, num hospedeiro vertebrado, pelo que o seu ciclo biológico é classificado de heteroxeno (ESCCAP, 2017; CVBD, 2018). Apresentam um ciclo de vida longo quando comparado com os demais nemátodes, podendo este variar entre seis a nove meses (Kotani and Powers, 1982; Taylor et al, 2016) (Fig. 3).

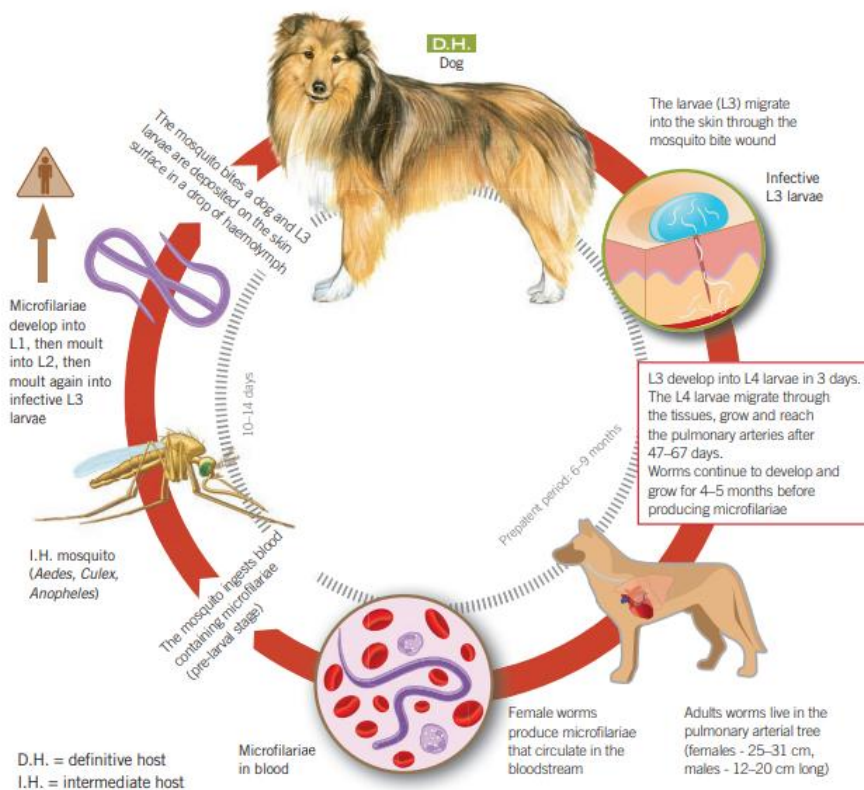


Figura 3 - Ciclo de vida de *Dirofilaria immitis* no cão (Fonte: Beugnet et al, 2018)

As fêmeas adultas libertam as microfilárias para a corrente sanguínea do hospedeiro vertebrado, ficando estas disponíveis para serem ingeridas, podendo infectar um culicídeo fêmea quando este realiza a sua refeição num animal infectado, iniciando-se assim o ciclo no hospedeiro intermediário



Figura 4 - L3 de *Dirofilaria immitis* a projetar-se para fora do probóscide de um mosquito (Fonte: Bowman et al, 2014)

obrigatório (Urquhart et al. 1996; ESCCAP, 2019; AHS, 2014) (Fig. 4). Nas primeiras 24 horas, as microfilárias recém ingeridas iniciam então a sua migração, primariamente para o intestino médio, onde ficam durante cerca de 1 dia. Passam depois para os túbulos de Malpighi, penetrando no citoplasma das

células primárias aí existentes, onde permanecem cerca de 5 dias se se apresentarem as condições ideais. Regressam ao lúmen desse órgão onde, 8 a 10 dias após a infecção, mudam para o estágio L2 (Bowman, 2014; Alho et al, 2014; AHS, 2014; CVBD, 2018). As microfilárias desenvolvem-se para o estágio L3 infetante no interior destes vetores por volta do 13º dia, após a refeição em que foram ingeridas as microfilárias, sendo nesta fase que as larvas migram para as probóscides do hospedeiro intermediário, onde serão transmitidas ao hospedeiro definitivo na próxima refeição sanguínea, através de uma gota de hemolinfa (; McGreevy et al, 1974; Anderson, 2000; ESCAAP, 2012; Bowman, 2014).

O tempo necessário para que as microfilárias se desenvolvam para o estágio 3 infetante, depende da temperatura. A 27°C e 80% de humidade, demoram entre 10 a 14 dias. A temperaturas mais baixas, o desenvolvimento é mais lento (Kartman, 1953; AHS-current canine guidelines, 2014). Depois de penetrar no novo hospedeiro, através da solução de continuidade criada pela picada do mosquito durante a refeição, as larvas L3, já



Figura 5 - *Dirofilaria immitis* adultas no lado direito do coração (Fonte: Beugnet et al, 2018)

sexualmente diferenciadas, iniciam uma longa migração pelo tecido subcutâneo e muscular ao nível do tórax (ESCCAP, 2019; Bowman, 2014; Taylor et al, 2016). A muda para L4 é realizada 3 a 4 dias após a entrada no hospedeiro vertebrado e para L5 pelo menos passados 50-70 dias (Orihel, 1961; Alho et al, 2014; Bowman, 2014). Nesta etapa, os jovens adultos têm 12 a 15 mm de comprimento (Bowman, 2014). Ao chegarem aos pulmões, os parasitas, agora jovens adultos, são movimentados pela pressão sanguínea para as pequenas artérias pulmonares, sendo forçados para as artérias de maior calibre à medida que as dirofilárias vão crescendo e o calibre dos vasos começa a ser insuficiente para as manter (AHS, 2014; Alho et al, 2014). No momento em que os parasitas se movem para o lado direito do coração ou para a artéria pulmonar, o seu comprimento varia entre 20 a 40 mm (Orihel, 1961) (Fig. 5). Se a carga parasitária no animal for baixa, os parasitas serão encontrados principalmente nas artérias lobares e na artéria pulmonar. Se pelo contrário, a carga for grande, estes começam a aparecer no lado direito do coração, mais concretamente no ventrículo direito. Cães com mais de 40 indivíduos estão predispostos a ter síndrome da veia cava, devido à movimentação das dirofilárias pelo ventrículo e átrio direitos e a veia cava, interferindo assim com o fluxo normal do sangue, levando a hemólise e falências hepática, renal e cardíaca (Ishihara et al, 1978; Atwell and Buoro, 1988; AHS, 2014). Passados 85 a 120 dias da infecção no hospedeiro, alguns parasitas chegam a atingir 11 cm de comprimento e aos 120 dias os parasitas estão sexualmente maduros. As fêmeas

começam a ficar fertilizadas se estiverem na presença de machos, aparecendo microfilárias completamente desenvolvidas 6 meses após a infecção. (Orihel, 1961; Kotani and Powers, 1982; AHS, 2014; Bowman, 2014). As formas adultas apresentam coloração branco-acinzentada. As fêmeas medem cerca de 350-300 mm de comprimento e 1-1,3 mm de diâmetro enquanto os machos se ficam por 120-200 mm de comprimento e 0,7-0,9 mm de diâmetro e apresentam cauda em espiral (Alho et al, 2014; Taylor et al, 2016). Normalmente as microfilárias não são encontradas na corrente sanguínea por algumas semanas, daí que o período pré-patente seja entre 6 a 9 meses. Os adultos podem continuar a produzir microfilárias por mais de 5 anos. Estas entram para a circulação sanguínea, podendo ser ingeridas por um mosquito culicídeo durante a sua alimentação. No cão, os parasitas na forma adulta podem chegar a viver 7 anos, sendo que uma microfilária sobrevive entre 2 a 18 meses. (ESCCAP, 2019; AHS, 2014; Bowman, 2014)

#### 4. Epidemiologia

Os cães e os canídeos silvestres mais próximos (por exemplo, raposa, lobo, chacal, coiote), são os hospedeiros naturais de *D. immitis*. Também pode ser infetada uma grande diversidade de animais, como é o caso de gatos e outros felídeos silvestres, furões e outros mustelídeos silvestres (Bowman, 2014; Taylor et al, 2016). *D. immitis* está distribuída por todo o mundo, tendo particular expressão nas zonas quentes/temperadas do globo e que possuam uma humidade substancial. No entanto, nos últimos 5 anos na Europa, a prevalência tem aumentado nos países do Sul, enquanto nas regiões do Norte tem havido uma dispersão da doença em áreas anteriormente não endémicas (Alho et al, 2014; ESCCAP 2017). A necessidade do envolvimento de mosquitos culicídeos vetores no ciclo biológico de *D. immitis*, faz com que a sua área de distribuição esteja intimamente ligada com as alterações climáticas, fazendo com que a mais pequena variação possa mudar rapidamente as áreas afetadas pelo parasita (Alho et al, 2018). Assim, *D. immitis* tem vindo a ser reportada em zonas que não correspondiam ao seu padrão de dispersão, como, por exemplo, em zonas de elevada altitude e de temperaturas mais baixas (Morchón et al, 2012).

O potencial infeccioso de dirofilariose é alterado por diversos fatores: alterações climáticas e aquecimento global, a densidade da população dos vetores e hospedeiros definitivos, deslocações de animais microfilarémicos através do turismo e adoção, aumento do número de animais abandonados, resistências a inseticidas, hospedeiros reservatório selvagens (como, por exemplo, raposas) e a crise económica que pode levar à redução da prevenção ao nível do animal e ao aumento da capacidade de propagação da doença por falha dos serviços de Saúde Pública que devem monitorizar e controlar os seus vetores (Medlock et al, 2007; Genchi, 2012; Alho et al, 2014; Taylor et al, 2016; ESCCAP, 2017). Este aumento



de prevalência pode também ser explicado por outros fatores, como o desenvolvimento de áreas não endêmicas ou de prevalência baixa, principalmente pela alteração da drenagem e fornecimento de água a novas zonas urbanas, resultando no aumento das áreas atingidas e da prevalência de dirofilariose. A expansão urbana leva à formação das chamadas "heat islands" ou ilhas de calor, que são zonas que conseguem absorver calor durante o dia, criando, assim, microambientes favoráveis ao desenvolvimento das larvas durante os meses mais frios, levando ao prolongamento da época de transmissão (Morchón et al, 2012:AHS, 2014). Por exemplo, no oeste dos Estados Unidos, a irrigação de novas áreas e plantação de árvores levou à expansão do habitat do mosquito *Aedes sierrensis*, o principal vetor para transmissão da dirofilariose nesses estados (Scoles et al, 1993). Outro exemplo é o culicídeo *Aedes albopictus*, um mosquito de áreas urbanas que é capaz de se reproduzir em pequenos compartimentos e objetos que usamos no dia a dia (por ex., vasos de flores) e que se dispersou devido à comercialização de pneus usados, estando constantemente a propagar-se para novas zonas (Benedict et al, 2007;AHS, 2014 ).

A temperatura e a humidade desempenham um papel crucial, tanto na manutenção da população de mosquitos como na maturação das larvas ingeridas para a forma infectante L3 nos vetores. Foi demonstrado num estudo, numa população de 3 espécies diferentes de mosquitos, que a temperaturas inferiores a 14°C, a maturação das larvas é interrompida. (Chistensen and Hollander, 1978; Fortin and Slocombe, 1981; Cancrini e Gabrielli, 2007). Apesar de, normalmente, nos meses de inverno a transmissão de dirofilariose decrescer, esta nunca chega a cessar devido à criação de microclimas nos ambientes urbanos. Além disso, algumas espécies de mosquitos conseguem sobreviver no inverno e, apesar das temperaturas baixas, podem fazer um "stand by" e interromper temporariamente o desenvolvimento do parasita, voltando este a desenvolver-se rapidamente com o aumento daquelas (AHS, 2014). No hemisfério norte, os meses com risco de transmissão mais elevado são os de julho e agosto (Guerrero et al, 2004). Apesar de serem feitos diversos modelos de previsão da transmissão da dirofilariose, usando apenas informação climática, estes normalmente verificam-se ineficazes por não equacionarem diversos fatores que são cruciais na transmissão, como a influência dos microclimas urbanos, variações no tempo de desenvolvimento larvar, esperança de vida dos mosquitos e flutuações de temperatura (AHS, 2014). Muitos destes mapas de risco, assumem que os mosquitos apenas sobrevivem durante 1 mês. No entanto, vários mosquitos ultrapassam esta esperança média de vida, como é o caso de *Aedes albopictus* (3 meses) (Lowenberg Neto and Navarro-Silva, 2004), *Aedes sticticus* (3 meses) (Gjullin et al, 1950), *Ochlerotatus trivittatus* (2 meses) (AHS, 2014), *Aedes vexans* (2 meses) (Gjulin et al, 1950), *Ochlerotatus canadensis* (vários meses) (AHS, 2014) e também casos de hibernação de *Anopheles quadrimaculatus*, que é capaz de sobreviver 4 a 5 meses (AHS, 2014).

Alguns estudos efetuados, com recurso à captura de mosquitos em áreas endémicas, demonstraram que a percentagem de mosquitos infectados com *D. immitis*, varia de 2,1% a 19.4%, aumentando para 30% nas áreas adjacentes a canis que albergam cães infetados e para uns impressionantes 74%, no interior destes, dando o alerta de que um só cão positivo pode gerar o alastramento exponencial da doença (McKay et al, 2013). Ao analisarmos esta informação, constatamos que é vital protegermos os nossos animais da exposição ao mosquito, quer por maneio ambiental (através do tratamento dos cursos de água estagnadas com reguladores de crescimento de insetos, aliados a medidas adulticidas para mosquitos como sprays e armadilhas de CO<sub>2</sub>), quer por maneio animal (pela manutenção dos animais em casa durante as horas de maior risco e pelo uso de repelentes que podem reduzir o risco de infeção), uma vez que, assim que fiquem estabelecidos hospedeiros microfilarémicos domésticos e selvagens como reservatórios, a presença de um ou mais vetores faz com que a transmissão seja possível e a erradicação fique muito complicada (AHS, 2014). O risco de infeção por *Dirofilaria* sp. é 4 a 5 vezes superior em animais com acesso ao exterior e em animais errantes, sendo também superior em animais com idades compreendidas entre 3 e 15 anos (Ettinger e Feldman, 2010; Alho et al, 2014). O controlo de vetores, apesar de praticamente invisível aos olhos do público em geral, desempenha um papel importantíssimo em manter os níveis de infeção em valores bastante inferiores aos que seriam se as medidas de controlo não fossem adotadas (Bowman, 2014).

Em todo o mundo, existem cerca de 70 espécies de mosquitos culicídeos que são considerados potenciais vetores para a dirofilariose, sendo que várias destas espécies se encontram amplamente distribuídas pelo território de Portugal continental (tais como *Culex theileri*, *C. pipiens*, *Anopheles maculipennis s.l.*, *Anopheles atroparvus*, *Aedes caspius* e *Aedes detritus*), sendo que todos estes culicídeos foram encontrados infetados com *D. immitis* no território de Portugal continental. Na ilha da Madeira, de todas as espécies capturadas, apenas foi encontrada infeção em *C. theileri* (Ferreira et al, 2015).

Um problema emergente e de contornos bastante graves tem sido a disseminação na Europa da espécie *Aedes albopictus*, que, além dos agentes da dirofilariose, também é vetor dos vírus do dengue e da febre amarela. Uma das maiores preocupações em relação a esta espécie é o facto de ser um picador diurno (ao contrário da maioria das outras espécies que têm atividade maioritariamente noturna), sendo uma característica que se prespetiva que vá aumentar exponencialmente os casos de dirofilariose (Santa-Ana et al, 2006; Almeida, 2010).

Várias espécies de filarídeos têm no seu interior a bactéria *Wolbachia pipientis*. Esta bactéria, da ordem das rickettsias, tem um papel de grande importância na vida do nemátode e é por esta razão, que tem sido utilizado como alvo de intensa investigação para uma melhor compreensão da sua relação com a biologia e patogenia do parasita, resultando



em várias terapias contra a bactéria, na tentativa de reduzir consequentemente os efeitos patogénicos de *Dirofilaria immitis* (Simón et al, 2012).

Em Portugal, *D. immitis* é endémica/hiperendémica de acordo com as áreas onde é detetada e é considerada como umas das parasitoses com maior relevância no país (Alho et al, 2014). É importante referir que, em Portugal, existem outros filarídeos, como por exemplo *Dirofilaria repens* e o *Acanthocheiloneuma reconditum*, pelo que é indispensável proceder à sua correta identificação quando efetuamos o diagnóstico parasitário (Menn et al, 2010; Magnis et al, 2013; Maia et al, 2016). Um dos primeiros estudos para deteção de *Dirofilaria immitis* em Portugal, revelou que esta estava presente em várias regiões do país, nomeadamente em zonas mais a sul e na região da Madeira (Araújo et al, 1996). Esta situação é justificada com o facto de Portugal ser dos países mais quentes da Europa e por possuir condições climáticas que favorecem a reprodução e o desenvolvimento do vetor (Alho et al, 2018).

Apesar de haver variações da prevalência, verifica-se uma tendência constante de aumento do registo de animais positivos de norte para sul, talvez devido a fatores de ordem climática que favorecem o desenvolvimento e atividade dos vetores (Cardoso et al, 2012).

Num estudo feito em 1996, foi encontrada uma prevalência de 30% na ilha da Madeira, 16.5% no Alentejo e 12% no Algarve (Araújo et al, 1996).

Num estudo mais recente, que envolveu 120 clínicas veterinárias, as prevalências serológicas foram de 2,9% a 3,4% no norte do país, 0.9% a 7,4% no centro, entre 4,7% e 14% no Alentejo, de 2,4% a 5,8% em Lisboa e de 5,1% a 17,1% no Algarve, havendo uma prevalência global de 3,6% em cães com aspeto saudável e de 8,9 % em cães com doença aparente (Cardoso et al, 2012). Noutro estudo foi observada uma prevalência de 13,2% em Santarém, 24.8% em Setúbal e 13.8%% em Coimbra, com uma prevalência global de 15.1% (Alho et al, 2014a). Em 2015, foi encontrada uma prevalência de 9,4% no sul do país (Maia et al, 2015). Em cães com funções policiais em que eram praticadas medidas quimioprofiláticas, a prevalência observada ficou nos 0,8%, mas o único caso positivo de *D. immitis* foi detetado no Algarve (Vidal et al, 2014). Em 2011, a prevalência de dirofilariose canina encontrada no norte do País foi de 2,1%, com maior expressão em Aveiro (6,8%) e Coimbra (8.8%) (Morchón et al, 2012). A ilha da Madeira, devido às suas condições climáticas, é considerada hiperendémica para a dirofilariose canina, tendo prevalências na ordem dos 40% (Cardoso et al, 2012). Noutros estudos foi encontrada uma prevalência de 7,9% para as zonas do sul e de 2,1% para o norte do País, evidenciando uma vez mais as condições climáticas mais favoráveis a sul do país (Maia et al, 2015).

A prevalência encontrada em Portugal está a par com a encontrada noutros países de clima mediterrânico do sul da Europa (Genchi et al, 2005; Otranto et al, 2009) (Fig. 6). Por exemplo, em Espanha, tal como em Portugal, são as áreas com cursos de água e as que se situam mais para sul onde encontramos prevalências superiores: Alicante (13%), Badajoz (14%), Cádiz (12%), Córdoba (18%) e Huelva (36,7%) (Ortega-Mora et al, 1991; Morchón et al, 2012). Falando das

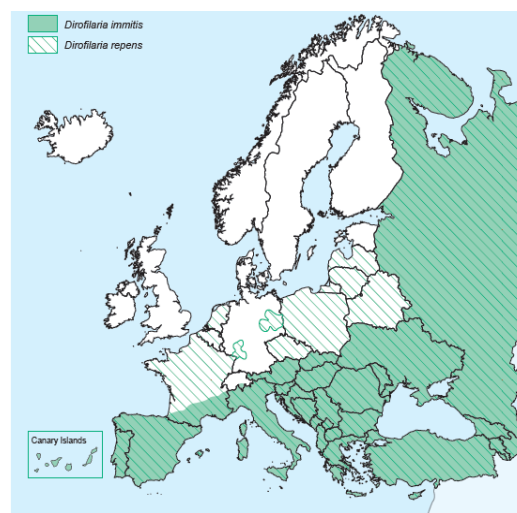


Figura 6 - Distribuição de *Dirofilaria immitis* na Europa (Fonte: ESCCAP, 2019)

insulares de Espanha, as ilhas Canárias, como é o caso da Gran Canaria, são endémicas, tendo prevalência de 20% e 36%, respetivamente (Morchón et al, 2012). Outro estudo concluiu também que a dirofilariose se encontra disseminada em Espanha, com as ilhas Canárias a apresentarem prevalências de 40% (Simón et al, 2012). Tal como noutros países, é a costa espanhola mediterrânica onde se tem encontrado maior prevalência, 18% em Alicante e 39% em Ibiza (Morchón et al, 2012). Em Itália, são encontradas prevalências de 50% nas áreas mais afetadas, principalmente as próximas de cursos de água (como é o caso do rio Pó), assim como na Grécia, onde foram encontradas prevalências na ordem dos 10% (Papazahariadou et al, 1994; Simón et al, 2012). Em França, as zonas de maior prevalência situam-se também junto ao mediterrâneo (Morchón et al, 2012). Um estudo que abrangeu a região da Normandia e a Britânia, reportou prevalências de 5% e 10% respetivamente (Simon et al, 2012). Na Suíça, em 2001, foi reportada uma prevalência de 10,7% e na Alemanha foram diagnosticados 80 cães positivos (Petruschke et al, 2001; Simón et al, 2012).

No que toca ao risco de transmissão no território português, um estudo avaliou 5 regiões quanto ao número de dias favoráveis para a transmissão de *D. immitis*, em que os resultados apuraram a Ilha da Madeira como o lugar mais propício para este efeito, com 8 meses/ano, seguido de Faro (6,9 meses/ano), Lisboa (6,4/ano), Açores (5,6 meses/ano) e, por último, Porto (5 meses/ano). Este estudo demonstrou também que a época de potencial transmissão, começa antes e termina depois dos meses mais quentes do ano (Alho et al, 2014; Alho et al, 2018). As alterações climáticas têm distorcido completamente os parâmetros de transmissão e de propagação da *D. immitis* em todo o mundo e Portugal não é exceção, como demonstrou um estudo no território continental, que concluiu que as condições climáticas em Portugal eram favoráveis à transmissão de parasitas de origem vetorial, principalmente nas áreas mais a sul (Casimiro et al, 2006). Tal como referido anteriormente, em relação ao continente europeu, também em Portugal já foi identificado *A. albopictus*, que devido às suas características particulares, entre as quais a de ser um

picador diurno, fazem com que o número de casos de infeção com origem neste vetor possa aumentar gravemente (Direção Geral de Saúde, 2017).

Como já referido, a *D. immitis* tem uma grande variedade de hospedeiros silváticos, também chamados de reservatórios naturais, e em Portugal isso não é exceção. Vários estudos têm identificado este parasita em diferentes hospedeiros no território nacional, tais como: raposas selvagens (Eira et al, 2006; Alho et al, 2016a; Alho et al, 2018), lontras selvagens (Torres et al, 2004) e em pinípedes no parque aquático Zoomarine no Algarve (Marcelino, 2015; Alho et al, 2017). Também em Espanha, em vários pontos do seu território, tem sido reportada casuística de dirofilariose em raposas selvagens (Segovia et al, 2001; Manas et al, 2005). Também em alguns zoológicos tem havido casos reportados de dirofilariose em grandes felinos e em ursos (Simón et al, 2012). Em Portugal, coexistem outras espécies de filarídeos (*A. reconditum* e *A. dracunculoides*), sendo, por isso, crucial a distinção entre as várias espécies para a realização da terapêutica adequada (Alho et al, 2014).

Apesar de ser considerado raro, casos de dirofilariose em humanos têm sido cada vez mais reportados nos países do mediterrâneo e da Europa de Leste (Alho et al, 2018). Os humanos são considerados hospedeiros acidentais, sendo que as lesões provocadas são geralmente assintomáticas. Esta é uma das razões pela qual se pensa que a dirofilariose humana está gravemente subdiagnosticada (Simon et al, 2012). Apesar da dirofilariose humana no continente europeu ser causada mais frequentemente por *D. repens*, também *D. immitis* pode ser agente etiológico, sendo caracterizada a doença humana por apresentar um nódulo em áreas periféricas do corpo e por ser normalmente assintomática, podendo, no entanto, apresentar: tosse, dor torácica, hemoptise, dispneia ou febre (Alho et al, 2018). Apesar dos casos de dirofilariose humana serem maioritariamente da forma subcutânea, existem ainda alguns casos preocupantes da forma pulmonar. Na Europa, foram reportados 33 casos da forma pulmonar e no continente americano mais de 150 casos (Simón et al, 2012). Os parasitas, que na infeção humana raramente atingem a forma adulta, ao morrerem no coração, são levados até aos pulmões através da artéria pulmonar, onde podem formar nódulos e provocar sintomas de tromboembolismo, caracterizando a forma pulmonar nos humanos (Leite et al, 2006).

## 5. Prevenção

O controlo dos mosquitos é uma tarefa muito difícil e, por essa razão, a profilaxia baseia-se, quase inteiramente, no uso de fármacos na profilaxia e terapêutica de dirofilariose (Taylor et al, 2016). No entanto, actualmente é reconhecido que uma administração tópica de permetrina com dinotefurano provou ter efeito repelente contra mosquitos durante um período de pelo menos 4 meses (ESCCAP, 2019). A prevenção para a dirofilariose deve ser atentamente discutida em conjunto com os donos. Se não houver registo de tratamentos ou de testagem, o animal deve ser submetido a testes de diagnóstico antes de começar qualquer protocolo de quimioprofilaxia (AHS, 2014). As opções são várias e incluem administrações mensais, quer orais, quer tópicas, ou semestrais, com vias de administração parenteral. Apesar de os cães serem extremamente suscetíveis a esta parasitose, a prevenção da dirofilariose é possível mesmo que aqueles hospedeiros vivam em áreas endémicas, sendo a quimioprofilaxia uma prioridade nestes casos (Bowman, 2014). Os cachorros jovens devem começar o protocolo de prevenção o mais cedo possível, não ultrapassando as 8 semanas de idade e se o fizerem, os cachorros devem ser testados 6 meses após a primeira dose e anualmente daí em diante (Ettinger e Feldman, 2010; ESCCAP, 2017; Taylor et al, 2016). Os cães adultos (com mais de 7 meses) ou que tenham sido expostos ao risco de infeção por *D. immitis*, devem fazer um check-up completo, incluindo testes para deteção de microfílias e de antígeno, antes de começar qualquer protocolo preventivo (AHS, 2014; ESCCAP, 2019). Esta prática é fundamental para que não haja atrasos na deteção de infeções subclínicas, dúvidas na eficácia no protocolo usado e no caso de haver uma infeção anterior ao começo da quimioprofilaxia, permite que esta seja detetada antes do começo do protocolo. (AHS, 2014; Bowman, 2014). Reduzindo o número de hospedeiros disponíveis, através do aumento da população de cães que fazem protocolo quimioprofilático, existe evidência de que ocorre um decréscimo exponencialmente grande na prevalência da infeção entre os cães desprovidos de qualquer proteção, sendo que esta proteção "colateral" é mais eficaz em áreas em que a prevalência e a população de cães é reduzida. Mesmo em países em que a transmissão possa não acontecer durante todo o ano, o uso de quimioprofiláticos com espectro para endoparasitas e/ou ectoparasitas pode ajudar a prevenir os níveis de infeção (AHS, 2014). Para a prevenção da dirofilariose, temos actualmente no mercado as chamadas lactonas macrocíclicas, grupo ao qual pertencem a ivermectina, selamectina, milbemicina oxima e moxidectina. Temos ainda a dietilcarbamazina (AHS, 2014; Bowman, 2014; ESCCAP, 2017), que é muito segura e eficaz, mas tem alguns inconvenientes, como o facto de só poder ser utilizada em cães amicrofilarémicos e tem de ser administrada diariamente durante a época de transmissão e até 2 meses depois desta acabar. Tem como espectro de ação a eliminação de L3 e L4 (Ettinger e Feldman, 2010; Alho et al, 2014; Taylor et al, 2016). As lactonas macrocíclicas

afetam as microfilárias, as larvas de 3º e 4º estádios, podendo, em casos de uso contínuo, afetar também os parasitas na forma adulta (McCall et al, 2008b; ESCCAP, 2019). Como a eficácia destas substâncias pode ser atingida usando doses baixas, as lactonas macrocíclicas são medicamentos bastante eficazes e encontram-se entre os mais seguros a usar em medicina veterinária. Todas as lactonas macrocíclicas têm tabelada uma eficácia de 30 dias, depois deste intervalo a sua ação começa a diminuir e o seu potencial profilático torna-se imprevisível (Paul et al, 1986). À medida que as larvas vão amadurecendo e evoluindo para estádios mais avançados, a sua resistência à quimioprofilaxia também aumenta, sendo necessárias administrações a longo prazo para atingir os níveis de proteção desejados (McCall, 2005; AHS, 2014).

O facto de estas substâncias poderem ter algum nível de proteção nos estádios pós infecção, deve ser visto como uma proteção adicional parcial, que serve para compensar o esquecimento, atraso de alguma dose ou situações de cães previamente infetados, e não como uma oportunidade de aumentar o intervalo de 30 dias entre administrações dos fármacos orais e tópicos, sendo de primordial importância a administração contínua anual (AHS, 2014). Algumas raças de cães, como por exemplo os Collies, têm uma deficiência da glicoproteína-P e são mais sensíveis a alguns fármacos, entre os quais as lactonas macrocíclicas, tendo sido reportados casos de toxicidade em situações de sobredosagem ou combinações com outros fármacos inibidores de glicoproteína-P (AHS, 2014). Crê-se, no entanto, que estas intoxicações ocorrem usualmente como resultado de más práticas, principalmente com ingestão de preparações concentradas ou com erro de cálculo humano, visto que as doses recomendadas de todas as lactonas macrocíclicas foram demonstradas como seguras para todas as raças (Mealey, 2008; ESCCAP, 2017).

Em termos de administração oral, a ivermectina e a milbemicina estão disponíveis para toma mensal, existindo algumas formulações mais palatáveis para facilitar a administração do produto, e as doses são vendidas de acordo com o intervalo de peso do animal. Para que a eficácia seja maximizada, a administração mensal deve ser repetida durante todo o ano. No caso de ser escolhido um controlo sazonal, a administração deve começar 1 mês antes do mês do começo da transmissão da dirofilariose e, dependendo do produto escolhido, até 6 meses após o cessar da época de transmissão da doença (AHS, 2014; Taylor et al, 2016). Para uso tópico estão disponíveis a moxidectina e a selamectina, sendo os parâmetros os igualmente usados nas administrações orais. No caso de a via escolhida ser a parentérica, o protocolo consiste numa única dose de injeção subcutânea lenta de microesferas impregnadas com moxidectina, que fornece uma proteção até 6 meses (ESCCAP, 2017; Bowman, 2014). Apesar de algumas destas moléculas terem alguma ação contra outros endoparasitas, alguns destes produtos têm sido combinados com outros fármacos que oferecem proteção adicional contra endoparasitas ou ectoparasitas. Isto permite uma maior

facilidade em proceder a protocolos antiparasitários que tenham em conta as exigências de cada animal (Bowman, 2014).

Nos casos de viagens com animais, a ESCCAP recomenda que estes sejam previamente examinados para o caso de haver infeção e tratados contra adultos e microfilárias tanto de *D. immitis* como de *D. repens*. Devem começar um protocolo preventivo com lactonas macrocíclicas, nos primeiros 30 dias depois de chegarem ao destino. No caso de não ficarem mais de um mês fora, um único tratamento é geralmente suficiente para haver um controlo eficaz após regressarem a casa. Se a estadia fora for mais prolongada, deve ser instaurado um tratamento mensal, que deve perdurar desde a entrada do animal até um mês após a sua saída. Animais sobre os quais não temos informação sobre onde estiveram e que não tenham antígenos e microfilárias em circulação, devem ser tratados 2 vezes, com 1 mês de intervalo, e testados para antígeno e microfilárias 6 e 12 meses depois. Apesar das recomendações da ESCCAP, em alguns países da Europa, uma situação preocupante é a que refere um estudo que revela que existem muitos profissionais que desconhecem as guidelines para a prevenção da dirofilariose na Europa, revelando que 54% dos 584 inquiridos não estavam atualizados sobre as práticas recomendadas (Genchi et al, 2014). A sul da Europa a prevenção deve ser efetuada de maio até novembro, exceto em áreas hiperendémicas, onde deve ser realizada durante todo o ano (ESCCAP, 2019).

Nos últimos anos, tem havido um aumento do número de relatos de ineficácia nos produtos usados na prevenção da dirofilariose (ESCCAP, 2012). A definição de ineficácia de um produto na prevenção da dirofilariose é considerada, pelo Center for Veterinary Medicine (CVM) do US Food and Drug Administration (FDA), como sendo um cão testado positivo, após ter sido medicado com a dosagem e intervalos de administração adequados, durante o seu protocolo preventivo (AHS, 2014; Ballesteros et al, 2011). Segundo as recomendações da World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology no que respeita à resistência aos antihelmínticos, é considerado que existe resistência se as contagens de ovos ou outras formas parasitárias não apresentarem uma redução de pelo menos 95% e se o nível de confiança for inferior a 90% (Bourguinat et al, 2015). Existem várias razões para tal fenómeno, como a administração insuficiente de produto, a falha nos intervalos de administração, a incapacidade do cão em reter o produto e a má absorção do mesmo (AHS, 2014). Além disso, também existem variações biológicas, tanto no metabolismo e resposta imunitária do hospedeiro, como na suscetibilidade do parasita ao fármaco (Bourguinat et al, 2015). Apesar de, por vezes, ser muito difícil apurar a causa da ineficácia, na maior parte dos casos, isto ocorre ou por falhas entre o médico e o cliente ou entre o cliente e o seu animal e não por falhas do fármaco propriamente dito, uma vez que é possível o animal ficar infetado por falha ou atraso na toma de uma administração mensal, particularmente se estivermos a falar de animais que se encontram em áreas endémicas (Ballesteros et al, 2018). Outra consideração a ter em conta, deve ser a sensibilidade cada

vez maior dos testes de antígeno para a dirofilariose, que podem testar positivo em animais com carga parasitária muito reduzida (Montoya-alonso et al, 2012; AHS, 2014).

A propósito da resistência aos fármacos, é atualmente aceite que o polimorfismo genético exista nas populações de *Dirofilaria immitis* e que a heterogeneidade genética possa contribuir para o aumento da resistência às lactonas macrocíclicas (Bourguinat et al, 2011b).

O que não se conhece é a frequência e a distribuição dos parasitas que apresentam resistências, o número de genes envolvidos e os fatores de dominância/recessividade associados a eles. No entanto, além da componente genética, também fatores aliados à biologia do parasita devem ser equacionados, visto que também o uso inadequado de fármacos serve como meio para selecionar populações de parasitas resistentes (Blagburn et al, 2013, 2016). Alguns estudos *in vitro*, identificaram algumas microfilárias que são menos suscetíveis a tratamentos com lactonas macrocíclicas (Blagburn, 2011; AHS, 2014). Estas microfilárias exibem um alelo no gene da glicoproteína-P que difere da população em geral. No entanto, testes de inibição de migração larvar (do inglês “larval migration inhibition assay”) utilizando as L3 destes isolados, mostraram que a diferença na suscetibilidade destas L3 em relação às outras populações conhecidas, pode também ser devida a outros fatores (Evans et al, 2013). Para diminuir o risco de seleção de populações resistentes às lactonas macrocíclicas, existem várias recomendações apresentadas pela ESCCAP, 2019) :

1 – Os cães devem ser testados para antígenos e microfilárias no início de cada tratamento preventivo.

2 - Apesar de não ser inteiramente dependente da *Wolbachia pipientis*, a eliminação desta bactéria parece fazer com que as microfilárias não continuem o seu posterior desenvolvimento nos mosquitos.

3 - Um protocolo que combine um preventivo para a dirofilariose e um repelente para mosquitos, pode ser muito útil na proteção dos cães durante a época de transmissão da doença.

A relação parasita-hospedeiro também pode ser um fator muito importante para a eficácia do protocolo de prevenção, constatado num estudo envolvendo *Brugia malayi*, um nemátode filarídeo, que concluiu que a ivermectina impede o parasita de produzir uma proteína imunomoduladora, ficando o parasita mais fragilizado à ação do sistema imunitário do hospedeiro (Moreno et al, 2010).

Outro estudo que utilizou microfilárias de *D. immitis*, demonstrou que na presença de ivermectina, os leucócitos uniam-se às microfilárias. Esta união não se dá na ausência de ivermectina (Vatta et al, 2014). Esta união foi constatada também noutros estudos, utilizando larvas de *D. immitis* (Abraham et al, 1988; Abraham e Grieve, 1990).

Tendo em conta resultados recolhidos por diversos estudos, a ação da ivermectina e das outras lactonas macrocíclicas, parece passar por afetar a capacidade das microfilárias e larvas de dirofilária de impedirem que o sistema imunitário do hospedeiro as reconheça

como ameaça, levando a que elas sejam expostas e eliminadas pelos mecanismos de defesa do hospedeiro (AHS, 2014).

Apesar de muito complexo e tendo como fatores a biologia do parasita, as alterações ambientais e até a interação entre animal e tutor, é imperioso que os médicos veterinários continuem a sensibilizar os donos para a prevenção da dirofilariose e certifiquem-se que os animais estão protegidos todo o ano. Neste cenário, a implementação de sistemas que recordem os donos da desparasitação (sms, email, telefonema, apps, etc), pode revelar-se essencial para que o animal receba a proteção no tempo devido (AHS, 2014; Bowman, 2014).

Apesar de os protocolos preventivos demonstrarem uma grande eficácia, alguns casos têm sido reportados anunciando cães com microfilarémia persistente, apesar de estarem submetidos a tratamento mensal (Bowman, 2014; ESCCAP, 2017). Um estudo bastante interessante foi documentado, usando um cão resgatado após o Furacão Katrina, no qual foi isolada uma estirpe de *D. immitis* com 2 alelos com glicoprotéina-P, que está associada à perda de sensibilidade às lactonas macrocíclicas. O animal foi tratado com dihidroclorido de melarsomina, 2 administrações com intervalo de 5 meses. Após este tratamento, o cão continuava microfilarémico apesar de estar em protocolo de prevenção mensal. 8 meses depois o animal era negativo à pesquisa de antígeno, mas continuava a ter microfilárias em circulação, apesar de ter sido tratado com múltiplos tratamentos com lactonas macrocíclicas, e continuou assim até 2 anos depois do segundo tratamento adulticida (Bourguinat et al, 2011a).

Como Portugal é considerado um país endêmico, com fatores climáticos favoráveis à transmissão de *D. immitis*, devemos seguir as recomendações da ESCCAP, que referem que os animais devem fazer prevenção mensal com lactonas macrocíclicas antes dos meses em que a transmissão é provável, e terminar bem depois de passado esse mesmo tempo de transmissão (ESCCAP, 2017). Apesar desta condição e, de a maioria dos proprietários dos animais fazerem a desparasitação nos seus animais, alguns estudos demonstram que o fazem de maneira inadequada, o que provoca problemas na eficácia dos produtos e põe em risco a profilaxia contra o agente parasitário (Alho et al, 2018). Um questionário realizado a proprietários num hospital veterinário, teve os seguintes resultados: 11,8% dos animais fazia desparasitação 4 vezes por ano, apenas 28,4% dos cães estava protegido durante o ano inteiro para os principais agentes parasitários transmitidos por vetores e apenas 13,1% dos cães fazia prevenção com lactonas macrocíclicas (Matos et al, 2015). Esta informação é muito importante, pois o uso de lactonas macrocíclicas é essencial para a profilaxia contra a *D. immitis* e deve ser complementado com medidas que visem o controlo do mosquito vetor, como o uso de coleiras e outros repelentes, evitar recipientes com águas paradas e estagnadas, usar redes mosquiteiras nas janelas e evitar zonas que sejam propícias à presença do mosquito (ESCCAP, 2019; AHS, 2014). É importante no



nosso país, por ter um alto risco de transmissão, tanto a implementação de protocolos de profilaxia, como a testagem regular para detetar animais com doença crónica ou subclínica (Alho et al, 2018).

## 6. Tratamento

O objetivo do tratamento da dirofilariose, é melhorar o estado clínico do animal e eliminar as dirofilárias de todos os estádios do ciclo de vida, adultos, microfilárias e larvas em migração, e deve ser executado de modo a haver o mínimo de consequências negativas no pós-tratamento. Para isso, é necessário compreendermos a relação hospedeiro-parasita (AHS, 2014; Bowman, 2014). O tratamento pode revelar-se muito complexo pois o parasita revela diferentes susceptibilidades aos anti-helmínticos, consoante o seu estágio evolutivo (Taylor et al, 2016). Cães que exibam sinais clínicos significativos, devem ser estabilizados primariamente ao tratamento e, como seria de esperar, o número de parasitas tem grande importância na gravidade dos sinais clínicos. No entanto, alguns estudos revelam que a atividade física do animal tem igual importância, senão superior (Calvert, 1986). Outros estudos demonstraram que, cães em que foram implantados 50 formas adultas de *D. immitis* e que mantinham restrição de exercício, demoravam mais tempo a desenvolver sinais clínicos, do que outro grupo que tinha 14 adultos e sem restrição de exercício (Dillon et al, 1995a,b). Apesar dos parasitas vivos poderem provocar endoarterite e hipertrofia muscular nas paredes das arteríolas, é com a sua morte que aparecem os principais sinais clínicos, que normalmente aparecem após a administração do tratamento adulticida (Taylor et al, 2016). À medida que os adultos vão morrendo, os seus fragmentos vão ficando alojados nas arteríolas e capilares pulmonares, fazendo com que haja um bloqueio da circulação sanguínea. São estes fragmentos, aliados à inflamação e agregação plaquetária, que irão desencadear o tromboembolismo pulmonar. Com o exercício físico, a pressão sanguínea nestes vasos aumenta, o que vai implicar rutura e posterior fibrose dos mesmos. Isto vai levar a aumento da resistência vascular no pulmão e, posteriormente, insuficiência cardíaca direita, o que é implicativo da importância do exercício físico na gravidade dos sinais apresentados (Hoskins et al, 1985; Rawlings et al, 1993a; Case et al, 1995; Dillon et al, 1995; Taylor et al, 2016).

Uma minuciosa classificação do quadro clínico pelo médico veterinário, é crucial antes de qualquer decisão relativa ao protocolo de tratamento escolhido (Ettinger e Feldman, 2010; Taylor et al, 2016).

Atualmente, o dihidrocloridato de melarsomina, administrada por via intramuscular nos músculos lombares, é o único produto eficaz na eliminação de adultos, na infeção por *D. immitis* (ESCCAP, 2019; AHS, 2014; Bowman, 2014). Ainda não foi demonstrado que a melarsomina tem atividade contra parasitas com idade inferior a 4 meses (AHS, 2014). No

entanto, estudos mais recentes confirmam que a melarsomina pode ter uma maior eficácia contra formas mais jovens, ao contrário do que anteriormente se pensava (AHS, 2014). O tratamento recomendado com a melarsomina para os estádios 1 e 2 da doença, é o de 2 injeções de 2,5mg/kg com intervalo de 24 horas, levando à morte de 90% das formas adultas. Para o estágio 3, é recomendado um protocolo de 3 doses, 1 primeira de 2,5mg/kg e, passados pelo menos 1 mês, 2 injeções com a mesma dose com 24h de intervalo, onde são eliminados 98% dos adultos (AHS, 2014; Bowman, 2014). A American Heartworm Society recomenda o uso do protocolo de 3 doses, independentemente da gravidade dos sinais clínicos apresentados (excepto na síndrome da veia cava), por este se revelar mais eficaz e seguro que outros protocolos conhecidos (AHS, 2014).

O dihidrocloridato de melarsomina parece ser mais eficaz que o protocolo mais antigo de tiacetarsamida administrada por via endovenosa, tendo também menos efeitos secundários negativos no pós-tratamento (Rawlings et al, 1993).

O tromboembolismo pulmonar é uma realidade inevitável nas terapêuticas adulticidas bem sucedidas. Por vezes, pode ocorrer um tromboembolismo leve em áreas relativamente saudáveis do pulmão, que pode não ser clinicamente visível. Noutros casos, é mais sério e com complicações respiratórias graves que põem em risco a vida do animal. Estes sinais são normalmente evidentes 7 a 10 dias depois ou, ocasionalmente, até 4 semanas após o fim do tratamento adulticida (ESCCAP, 2019; Hirano et al, 1992). Para reduzir o risco das complicações de tromboembolismo, é de primordial importância proceder a uma estrita restrição de exercício físico durante cerca de 40 dias (ESCCAP, 2019; AHS, 2014; Bowman, 2014).

Para ajudar a controlar os sinais clínicos do tromboembolismo pulmonar, doses decrescentes de glucocorticoides podem ser administradas (ESCCAP, 2019; AHS, 2014). Apesar de alguns estudos apontarem para a perda de eficácia da tiacetarsamida quando administrada em conjunto com glucocorticoides, outro estudo demonstrou que não há perda de eficácia da melarsomina quando administrada concomitantemente com prednisolona (Rawlings et al, 1984; AHS, 2014). O protocolo de prednisolona recomendado é de 0,5mg/kg, 2 vezes por dia (BID) durante a primeira semana, passando para 1 vez por dia durante a segunda semana e para 1 vez a cada 2 dias durante 1 ou 2 semanas. A prednisolona e outros glucocorticoides podem ser utilizados em áreas endémicas, onde geralmente a carga parasitária dos animais é muito mais significativa (AHS, 2014).

Como a melarsomina não é completamente eficaz contra adultos, a sua ineficácia pode significar problemas na erradicação dos parasitas. Este problema pode ser minimizado administrando lactonas macrocíclicas ou doxiciclina (AHS, 2014). Apesar de não estar recomendado, ivermectina, em dose profilática, pode ser usada previamente à administração de melarsomina, mensalmente durante 2/2,5 anos, de modo a reduzir a infeção, eliminar as larvas existentes e permitir o desenvolvimento das larvas mais maduras

até serem suscetíveis à melarsomina, devendo ser apenas usada em casos particulares (AHS, 2014; ESCCAP, 2019). O animal deve ser monitorizado durante o tratamento, com a realização de raios -X para analisar o padrão pulmonar. Uma das grandes desvantagens deste protocolo é o uso a longo prazo das lactonas macrocíclicas, que pode levar ao desenvolvimento de população resistente de dirofilárias (ESCCAP, 2019). O uso das lactonas macrocíclicas como tratamento para microfilárias, pode causar a rápida eliminação destas e deve, portanto, ser usada com cautela em cães com grandes cargas parasitárias. Pelo contrário, o uso de moxidectina, mesmo em cães com grandes contagens, não registou reações adversas (McCall et al, 2014 a,b).

Para além de ser muito útil no tratamento da *Wolbachia*, o uso combinado de lactonas macrocíclicas com doxiciclina, tem efeitos negativos na reprodução e na resistência das dirofilárias adultas à terapêutica (AHS, 2014). Alguns estudos indicam que a eficácia adulticida da ivermectina e a actividade da doxiciclina contra *Wolbachia pipientis* são bastante melhoradas se forem conjugadas num só tratamento (Bazzocchi et al, 2008). Mais recentemente, foi provado que um protocolo combinado de ivermectina a 6µg/kg, a cada 15 dias, durante 180 dias, e doxiciclina a 10mg/kg por dia, durante 30 dias, têm uma boa eficácia adulticida e reduz o risco de tromboembolismo (ESCCAP, 2019; AHS, 2014). Durante o tratamento deve ser efetuada uma restrição radical de exercício físico, devem ser realizados testes de antigénio a cada 6 meses e o tratamento deve ser obrigatoriamente prolongado até que dois resultados negativos consecutivos sejam atingidos (ESCCAP, 2019).

Cães com infeção patente não devem começar a fazer protocolo preventivo sem que sejam eliminados os adultos, uma vez que há estudos que indicam que 10 a 20% dos cães, ou até mais, continuam com microfilárias em circulação por 1 ano ou mais (AHS, 2014).

A maior parte dos cães microfilarémicos infetados com adultos apenas do sexo feminino, após o tratamento adulticida ficam sem sinais clínicos de doença entre 6 a 9 meses, com ou sem tratamento microfilaricida, especialmente se forem tratados com doxiciclina e estiverem a fazer prevenção com lactonas macrocíclicas (McTier et al, 1994; Grandi et al, 2010;).

O teste de antigénio para a pesquisa de *D.immitis* é o método mais fiável para constatar a eficácia do tratamento adulticida, uma vez que se todas as fêmeas adultas tiverem sido eliminadas, o teste de antigénio deverá ser negativo 6 meses após o término do tratamento (Maxwell et al, 2014; McTier et al, 1994). Como a presença de larvas e indivíduos imaturos pode não ser suficiente para produzir antigénio de modo que o teste seja positivo, um teste negativo não deve ser indicativo de como o animal está isento de dirofilariose. Além disso, como os adultos continuam a morrer até mais de 1 mês após o tratamento, um cão com teste antigénio negativo antes dos 6 meses após o tratamento, deve ser submetido a outro após esse tempo para confirmar a eliminação da doença (AHS, 2014). Após o tratamento, o animal deve ser colocado em programa de profilaxia (Taylor et al, 2016).

O tratamento cirúrgico é aconselhado quando os adultos se encontram em grande número no lado direito do coração, pois existe o risco de ocorrer síndrome da veia cava (ESCCAP, 2019; Taylor et al, 2016). A síndrome da veia cava desenvolve-se quando os vermes adultos provocam a obstrução parcial da circulação sanguínea na válvula tricúspide, e interferem com o normal encerramento da válvula (AHS, 2014). Esta síndrome é caracterizada por grave congestão passiva no fígado, murmúrio sistólico de regurgitação na tricúspide e pulso jugular (AHS, 2014) (Fig. 7).

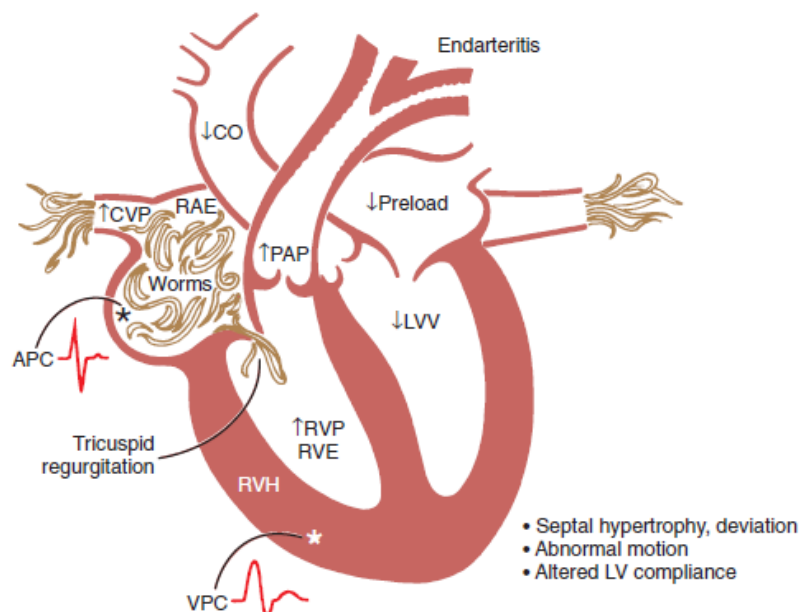


Figura 7 - Esquema que demonstra a patogénese da disfunção cardíaca na síndrome da veia cava. APC, complexo atrial prematuro, CO, débito cardíaco, CVP, pressão venosa central, LVV, volume do ventrículo esquerdo, PAP, hipertensão pulmonar, RAE, aumento da aurícula direita, RVE, aumento do ventrículo direito, RVH, hipertrofia do ventrículo direito, RVP, pressão do ventrículo direito, VPC, complexo ventricular prematuro. (Ettinger e Feldman, 2010)

O diagnóstico baseia-se no aparecimento repentino dos sinais clínicos, entre os quais letargia, dispneia, palidez das mucosas e fraqueza muscular, normalmente acompanhados de hemoglobinémia e hemoglobinúria (Atwell e Buoro, 1988; Kitagawa et al, 1986; AHS, 2014). A síndrome da veia cava pode ser confirmada por ecocardiografia, através da visualização de adultos na tricúspide e na veia cava posterior. Se não for executada uma remoção cirúrgica dentro de 2 dias, o desfecho poderá ser fatal para o animal (Atkins et al, 1988). Esta remoção cirúrgica deve ser efetuada antes da terapêutica farmacológica. Desta forma, asseguramos uma correta eliminação dos adultos e reduzimos os riscos de toxicidade da melarsomina e do tromboembolismo (Ettinger e Feldman, 2010; AHS, 2014). O procedimento é feito com recurso a sedação ou anestesia, com auxílio de pinças alligator flexíveis ou rígidas que são introduzidas na veia jugular (ESCCAP, 2019; Yoon et al, 2013). Esta técnica foi também efetuada na Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa usando um material não traumático e muito menos dispendioso que os

usados regularmente. O utensílio escolhido foi uma laço artesanal guiado por sonda que foi executado através da dobração de fio coronário e sua posterior inserção num catéter (Alho et al, 2016). Sempre que possível, os instrumentos devem ser guiados por fluoroscopia para, assim, ter um acesso mais seguro às câmaras cardíacas, mas também às artérias pulmonares (Ishihara et al, 1988; ESCCAP, 2019; AHS, 2014) (Fig. 8). Após o tratamento cirúrgico, o murmúrio deve começar a enfraquecer ou então desaparecer imediatamente, ao passo que a hemoglobinúria deve desaparecer entre 12 a 24 horas depois. Passadas poucas semanas após a cirurgia, o tratamento adulticida farmacológico deve ser instituído para eliminar quaisquer dirofilárias remanescentes no organismo (AHS, 2014).



Figura 8 - Remoção cirúrgica de *Dirofilaria immitis* adultas do ventrículo direito (Fonte: Beugnet et al, 2018)

No tratamento microfilaricida, podem ser usadas lactonas macrocíclicas, sendo, no entanto, aconselhado um pré-tratamento com anti-histamínicos e glucocorticosteroides em pacientes que possuam altas cargas de microfilárias, com o intuito de minimizar as reações adversas (Bowman e Atkins, 2009). Moxidectina tópica é usada para o tratamento microfilaricida e não mostrou reações adversas em estudos, tanto laboratoriais como em campo (McCall et al, 2014). Anteriormente, o tratamento microfilaricida era realizado durante cerca de 3 semanas a 1 mês após o tratamento para adultos. No entanto, o aparecimento dos protocolos mais recentes e eficazes, conjugando doxiciclina com lactonas macrocíclicas, fez com que não fosse necessário o posterior tratamento microfilaricida (McCall et al, 2008a, 2008b; Bazzocchi et al, 2008).

Para o tratamento da infecção oncomitante com *Wolbachia pipitiens* é utilizada a doxiciclina, antibiótico da família das tetraciclina, que é capaz de reduzir o número de bactérias em todos os estádios do parasita (AHS, 2014). Num estudo em que foi efetuada infecção experimental, a doxiciclina administrada durante os primeiros meses, mostrou-se letal para larvas dos estádios 3 e 4. Outro estudo mostrou que microfilárias tratadas com doxiciclina,

não conseguiam completar o seu desenvolvimento de forma a atingir a forma adulta (McCall et al, 2008a).

Existe evidência de que a bactéria *Wolbachia pipitiens* é passada transovaricamente pelas cadelas à sua descendência (Kozek, 1977). Existe evidência que a *Wolbachia* tem implicações nos sinais clínicos da dirofilariose, através da profunda estimulação pró inflamatória, da imunomodulação do hospedeiro e do melhoramento das condições de sobrevivência do parasita (Bouchery et al, 2013; Kramer et al, 2005a). Estudos recentes mostraram que *Wolbachia pipitiens* desencadeia uma resposta por IgG no hospedeiro, devido a uma proteína muito abundante na sua superfície (Kramer et al, 2005b). A doxiciclina, quando administrada antes do tratamento adulticida com melarsomina, ajuda a reduzir as reações inflamatórias resultantes da morte dos parasitas adultos. Desta forma, ao eliminarmos a bactéria, afetamos a relação de simbiose que se verifica entre esta e o parasita, tendo efeitos positivos como a paragem do desenvolvimento larvar, fêmeas estéreis e a eliminação dos adultos (Ettinger e Feldman, 2010; AHS, 2014). Mais estudos evidenciaram esta propriedade, de que animais previamente tratados com doxiciclina tinham menos complicações respiratórias após o tratamento adulticida (Kramer et al, 2011; McCall et al, 2008a). A dose de doxiciclina é de 10mg/kg e deve ser administrada 2 vezes por dia, durante 4 semanas, após as quais o número de *Wolbachia pipitiens* fica bastante reduzido, pelo menos durante 12 meses (Rossi et al, 2010). Pode ser usado outro fármaco em alternativa à doxiciclina, a minociclina, que, apesar de muito eficaz a eliminar *Wolbachia pipitins* em *Oncocerca gutturosa*, a sua eficácia em *D. immitis* nunca foi publicada (Towson et al, 2006). É possível que a doxiciclina tenha mais efeito na dirofilária em si do que na bactéria *Wolbachia*. No entanto, apesar de não ser inteiramente conhecida a razão, parece tratar-se de uma boa opção a administração da doxiciclina nos protocolos adulticidas, tanto para reduzir as infeções secundárias nos pulmões pela morte dos parasitas, como pela prevenção da transmissão de microfilárias remanescentes (Smith e Rajan, 2000).

## 7. Diagnóstico

O diagnóstico baseia-se na identificação de sinais clínicos de disfunção cardiovascular, com recurso a testes de deteção de antigénio ou por identificação de microfilárias no sangue. (ESCCAP, 2019; Bowman, 2014; Taylor et al, 2016).

Os cães com grandes cargas parasitárias encontram-se geralmente apáticos, com perda gradual da condição corporal, intolerância ao exercício, com tosse crónica com hemoptise, podendo, posteriormente, tornar-se dispneicos e desenvolver edemas e ascite. Em animais com infeções mais leves, o único sinal pode ser uma leve intolerância ao exercício (Taylor et al, 2016).

Atualmente, no mercado, existem testes de detecção de antígeno bastante fiáveis. A ação destes baseia-se na detecção de uma proteína secretada majoritariamente por fêmeas adultas (Courtney e Cornell, 1990). Para a detecção de microfilárias, os mais úteis são o teste de Knott modificado e o teste de filtração (AHS, 2014; Knott, 1939). Normalmente, os antígenos em circulação antecedem as microfilárias, mas, por vezes, podem sofrer algum atraso e só serem detetados algumas semanas depois da detecção das microfilárias, ou podem até mesmo nunca ser detetados ou, ocasionalmente detetados em animais com cargas parasitárias reduzidas (Atkins, 2003; AHS, 2014). Os antígenos apenas são detetados 5 meses após a infeção por larvas L3, e as microfilárias cerca de 6 meses após a inoculação das mesmas. Por esta razão, não se justifica a realização de testes em animais com menos de 6 meses de idade, mesmo que vivam em áreas bastante afetadas (Bowman, 2014). A circulação de antígenos pode ser suprimida até 9 meses após a infeção, se o animal estiver a fazer um programa de quimioprofilaxia com lactonas macrocíclicas (AHS, 2014). Os testes de detecção de antígeno são o método atualmente recomendado, por serem os dotados de maior sensibilidade. No entanto, é aconselhado fazer-se a detecção de microfilárias em animais de zonas que apresentem um elevado grau de infeção, uma vez que pode haver o risco de ocorrerem falsos negativos, provocados pela formação de complexos antígeno/anticorpo (Bowman, 2014; Ettinger e Feldman, 2010). Um estudo realizado num canil nos Estados Unidos, reportou uma prevalência de 7,1% de falsos negativos (Velasquez et al, 2014).

Atualmente, para a detecção de antígenos, existem testes de última geração que são dotados de alta sensibilidade e especificidade (94,4% e 100% respectivamente). Falamos dos testes de ELISA e de imunocromatografia, que têm grande utilidade como testes rápidos de diagnóstico em clínicas e hospitais, sendo que as diferenças de sensibilidade e a presença de falsos negativos são devidas a baixo número de fêmeas adultas ou de pouca concentração de antígenos (Courtney e Zeng, 2001; Atkins, 2003; McCall et al, 2008b; Lee et al, 2011; ESCCAP, 2019; Taylor et al, 2016).

Para obter resultados fidedignos, os testes de detecção de antígeno devem ser utilizados segundo as instruções do laboratório, visto que a fiabilidade dos testes é influenciada pelas condições em que são armazenados e utilizados os testes, bem como pela manipulação do *kit* diagnóstico e da própria amostra. Se o resultado de um teste for inesperado, este deve ser repetido e, posteriormente, confirmado por um laboratório de referência, se as dúvidas persistirem (AHS, 2014). A intensidade da cor de um teste antígeno positivo, não pode ser utilizada para o nível da carga parasitária, ao contrário da quantidade de antígeno circulante que tem uma relação direta com a carga parasitária, sendo no entanto um método bastante impreciso (AHS, 2014). Os testes de ELISA podem ter alguma utilidade na quantificação, ao contrário dos de imunocromatografia, mas esta avaliação pode ser limitada se a

concentração de antígenos for transitória, devido à morte recente de parasitas ou de baixa carga parasitária (Grieve e Knight, 1985; Wang, 1998).

Os resultados falso-negativos ocorrem com maior frequência quando estamos perante fêmeas imaturas, infecções só com machos, cargas parasitárias leves, mau manuseamento dos *kits* diagnóstico, aparecimento de complexos antígeno-anticorpo ou por ação de fármacos. No caso desta última ser a causa, uma maneira de tornar o teste mais fiável é o aquecimento da amostra, quebrando o complexo e libertando o antígeno. No entanto, este procedimento não é atualmente recomendado, tanto por ser contrário às instruções do laboratório, como por influenciar a deteção de outros agentes infecciosos. Devido a todas estas interferências, os resultados apenas podem ser registados como positivos ou "no antigen detected", não devendo ser registados como negativos (ESCCAP, 2019; Bowman, 2014; Velasquez et al, 2014). A probabilidade de falsos positivos é maior em zonas em que a população testada será totalmente negativa, e esta ideia deve ser tida em conta quando fazemos uma testagem numa população de cães que, em princípio, não está infetada. No caso de ocorrer um positivo num cão que faça protocolo preventivo, este deve ser retestado e, se persistir, o resultado deve ser submetido a um exame físico que suporte o diagnóstico de dirofilariose (Bowman, 2014).

Alguns cães de áreas com elevada prevalência, podem apresentar-se sem microfilarémia, principalmente se estiverem a fazer protocolo preventivo com lactonas macrocíclicas (McCall, 2005). A maior parte dos cães microfilarémicos podem ser detetados com recurso ao exame microscópico de gota de sangue fresco, com lâmina e lamela, ou por visualização de movimento celular causado pelas microfilárias (Ettinger e Feldman, 2010; AHS, 2014). Para resultados mais fiáveis, devem ser utilizados outros tipos de teste, como o Knott modificado e o teste de filtração, para determinar a presença de microfilárias. No entanto, o Knott modificado continua a ser o recomendado, tanto para observar a morfologia, como para fazer as medições que permitem diferenciar *D. immitis* de outros parasitas não patogénicos. (Knott, 1939; Bowman, 2014) (Fig. 9). Cerca de 30% dos cães podem ser positivos aos testes para microfilárias, apesar de terem já indivíduos adultos no organismo, e, por essa razão, não se deve descartar a doença em caso de resultado negativo (ESCCAP, 2019). É importante a distinção entre as microfilárias de *D. immitis* e *Acanthocheilonema reconditum* (AHS, 2014; Bowman, 2014). As de *D. immitis* têm 300 µm de comprimento e apresentam cabeça afunilada e cauda reta. Contrariamente, as de *A. reconditum* são mais pequenas e possuem cabeça romba e cauda em forma de gancho (Taylor et al, 2016)



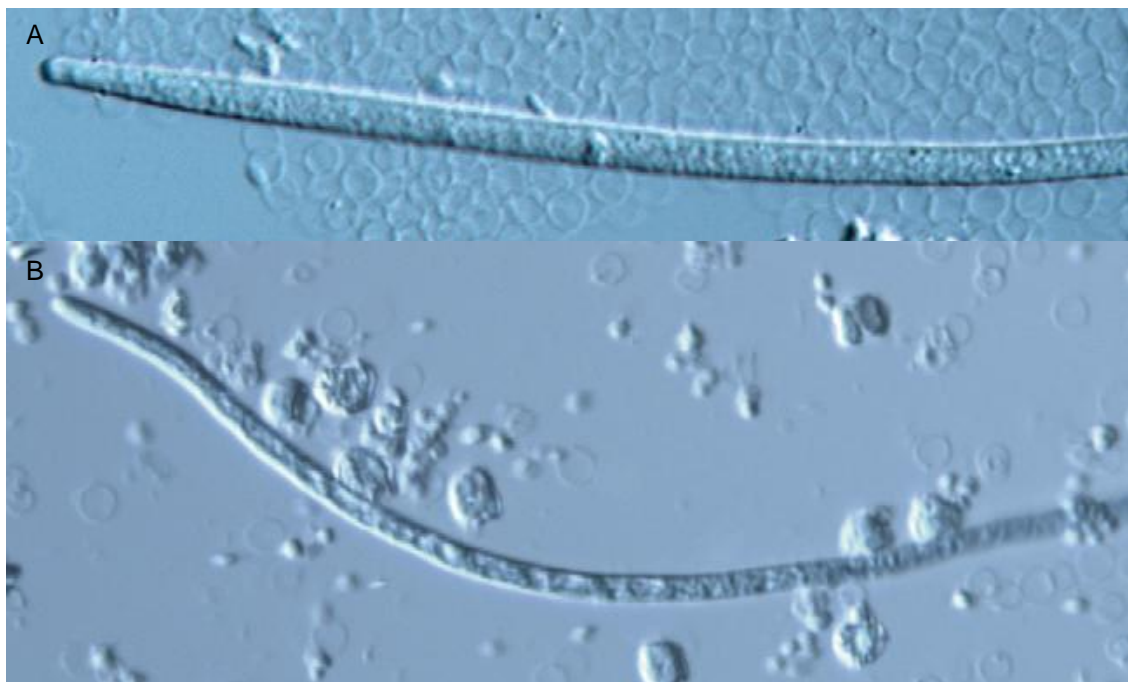


Figura 9 - Microfilárias de *Dirofilaria immitis* (A) e de *Acanthocheilonema reconditum* (B). A microfilaria de *A. reconditum* tem menor diâmetro que a microfilaria de *D. immitis*. (Fonte: Bowman et al, 2014)

Também podemos proceder à diferenciação das microfilarías por PCR ou com recurso à coloração por fosfatase ácida" (Gomes, 2009; ESCCAP, 2017). Nesta coloração por fosfatase ácida, *D. immitis* apresenta pontos positivos à reação das fosfatases ácidas, de coloração vermelha, no poro excretor e no ânus. Em contrapartida, *A. reconditum* fica com o corpo totalmente corado de rosa ou rosa avermelhado (Taylor et al, 2016).

O teste de Knott modificado é executado misturando 1 ml de sangue em EDTA com 9ml de formalina a 2% num tubo de centrifugação, sendo depois colocado em centrífuga. O líquido é depois decantado do tubo, deixando apenas o sedimento, ao qual é adicionado azul de metileno. É colocado em lâmina e lamela ao microscópio a 100x, para avaliar a presença de microfilarías e a 400x, para analisar as características morfológicas (AHS, 2014). Todos os cães devem ser submetidos a um teste de microfilarías, pois este, além de poder validar um resultado serológico, pode também ser utilizado como diagnóstico, caso o animal tenha complexos antígeno-anticorpo, e serve para caracterizar o animal como reservatório (AHS, 2014). A testagem e caracterização do nível parasitário do animal, é também importante caso se queira começar ou mudar o tipo de medicamento preventivo para a dirofilariose. O animal deve ser testado tanto com método serológico, como para microfilarías, que devem ser repetidos uma vez por ano (AHS; Bowman, 2014). Por vezes, altas contagens de microfilarías correspondem a poucos indivíduos adultos (ESCCAP, 2019).

Existem outros métodos de diagnóstico que podem ser usados no auxílio da confirmação do diagnóstico e para estadiamento da gravidade da doença. Uma radiografia pulmonar pode revelar-se bastante útil, tanto na avaliação do prognóstico do animal e na avaliação do risco de problemas pós tratamento adulticida, como por se tratar do método mais objetivo na

visualização do comprometimento pulmonar secundário à infecção do parasita. As alterações radiográficas mais frequentes são: as ramificações periféricas intra e interlobares das artérias pulmonares que se encontram alargadas, tortuosas e truncadas, particularmente ao nível dos lobos diafragmáticos, podendo ser acompanhadas de graus variáveis de doença do parênquima pulmonar, estando os casos mais graves, normalmente associados ao aumento do lado direito do coração, aumento da veia cava, derrame pleural e ascite (Bowman e Atkins, 2009 ; Gomes, 2009; AHS, 2014; ESCCAP, 2019) (Fig. 10).

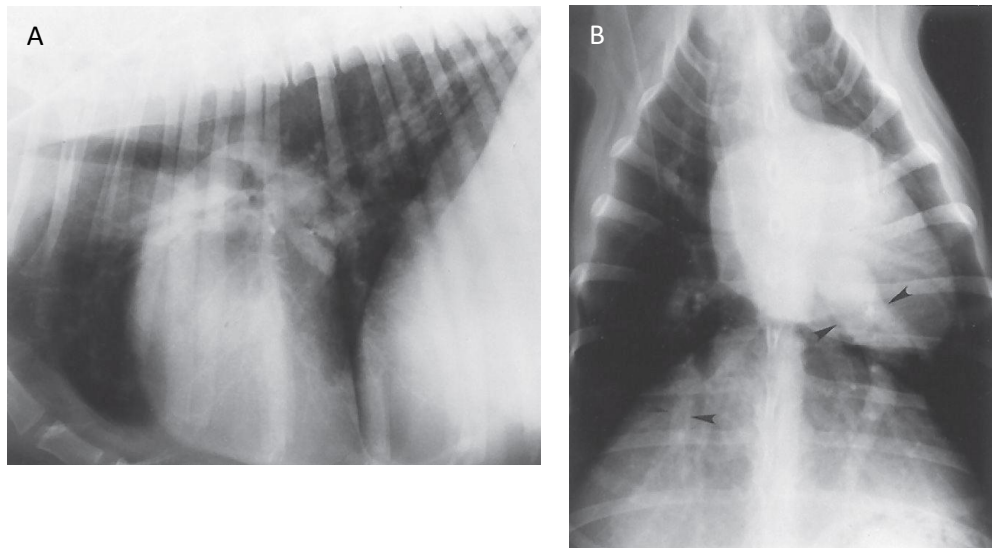


Figura 10 - Radiografias lateral (A) e dorsoventral (B) de um Pastor Alemão com dirofilariose em fase avançada. É visível o alargamento das artérias pulmonares, especialmente na radiografia dorsoventral (setas). (Fonte: Nelson e Couto, 2014)

A ecocardiografia pode fornecer tanto um diagnóstico definitivo, pois o corpo das dirofilárias é altamente ecogénico e, portanto, facilmente identificável, como num panorama geral dos danos funcionais devido à progressão da doença (Fig. 11). Este exame ecográfico também pode ser muito útil na confirmação da síndrome da veia cava. No entanto, se o animal tiver uma carga parasitária baixa, este método pode não ser muito eficaz pelo facto dos parasitas estarem nos ramos periféricos das artérias pulmonares e, portanto, fora do campo de visão da ecocardiografia. Pelo contrário, quando existe um grande número de parasitas, estes encontram-se nas principais artérias

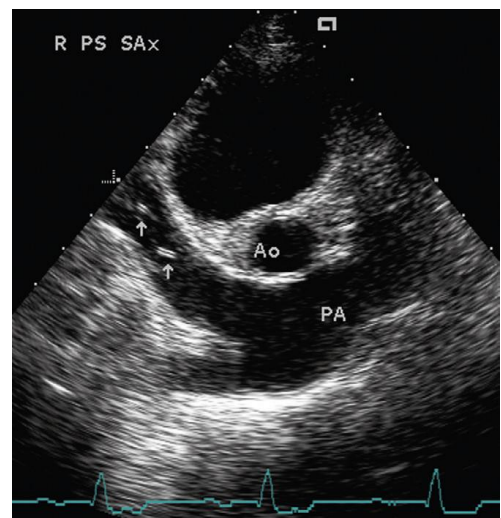


Figura 11 - Imagem ecográfica de um cão com dirofilariose em estado grave. Pode-se ver a dilatação da principal artéria pulmonar (PA). As setas mostram as dirofilárias (Fonte: Nelson e Couto, 2014)

pulmonares e até no lado direito do coração, sendo facilmente identificáveis (AHS, 2014; Venco et al, 2004; ESCCAP, 2019). A ecocardiografia também permite medir as dimensões do coração. Podemos assim calcular o rácio entre as dimensões do ventrículo esquerdo e as do ventrículo direito, que variam entre 3 e 4 para cães saudáveis e 0,7 para cães infetados (Ettinger e Feldman, 2010; Gomes, 2009).

No eletrocardiograma, apenas são detetadas anormalidades em estádios mais avançados da doença, ou seja, em situações em que o coração já está gravemente afetado (ESCCAP, 2019).

Uma avaliação pré adulticida, só deve ser executada em pacientes específicos e depois de levado em conta o seu historial clínico, um exame físico minucioso e testagem, tanto do antigénio, como para microfilárias. Atualmente, não existem testes que consigam determinar com precisão o número de parasitas presentes. Esta avaliação é também prejudicada pelo facto de cães infetados, quer por grandes ou baixas cargas parasitárias, possam ser assintomáticos e possam ter poucos sinais radiográficos (AHS, 2014).

Normalmente, devido a razões económicas, um grande número de tratamentos adulticidas são realizados sem a realização de um protocolo de diagnóstico intensivo. Apesar de ser muito importante um diagnóstico na caracterização do estágio da doença, e de cada plano dever ser desenvolvido em conjunto com o animal e com o dono, é preferível tratar sem um diagnóstico conclusivo do que não tratar, uma vez que, quanto mais tempo o parasita permanecer no organismo do animal e a doença persistir, maior será o comprometimento cardiopulmonar e maior o risco de morte (AHS, 2014).

## **II - Dirofilariose Cardiopulmonar em Canídeos Domésticos - Estudo Clínico e Retrospectivo**

### **1. Objectivos do estudo**

No presente estudo pretendeu-se determinar:

- 1- A prevalência de dirofilariose na população canina do concelho de Sintra;
- 2- Quais os protocolos antiparasitários aconselhados pelo médico veterinário, frequência de administração e grau de adesão por parte dos proprietários aos mesmos;
- 3- Comparação com os protocolos recomendados por organizações nacionais e internacionais (ESCCAP);
- 4- Qual a importância e a frequência dos fatores de risco para a transmissão parasitária na vida do animal;
- 5- Qual o grau de conhecimento dos inquiridos sobre a doença e se fazem prevenção para a dirofilariose.

## **2. Material e métodos**

### **2.1. Caracterização do local, da população canina e do clima no período da amostragem**

Para este estudo foram escolhidos 50 animais, seguidos numa clínica no concelho de Sintra, entre dezembro de 2017 e março de 2018. Todos estes animais eram residentes no concelho de Sintra. Segundo o censo de 2011, Sintra tem uma área de 319,23 km<sup>2</sup> e uma população de 377 835 habitantes (Concelho de Sintra, 2018). Este concelho apresenta tanto zonas urbanas como rurais, áreas rochosas, de floresta e praias. Relativamente às condições climáticas, durante o período em que decorreu o estudo, os meses de inverno (dezembro, janeiro, fevereiro) foram caracterizados como meses com temperaturas e precipitação inferiores ao valor normal, sendo classificado como um inverno frio e seco (IPMA Boletim Climatológico Sazonal – Inverno de 2017/18). O mês primaveril (março) foi caracterizado com temperaturas abaixo do normal e precipitação muito superior ao normal, sendo classificado como um mês frio e extremamente chuvoso (IPMA Boletim Climatológico Sazonal – Primavera 2018).

### **2.2. Constituição e caracterização da amostra**

A amostra populacional para o teste rápido de imunocromatografia e para o teste de Knott modificado, consistiu na colheita de sangue em 50 cães, seguidos numa clínica em Sintra. A escolha dos animais foi efetuada por conveniência entre os clientes da clínica veterinária e de acordo com a adesão dos proprietários ao estudo.

### **2.3. Colheita e processamento das amostras**

A colheita das amostras foi realizada pelo autor deste estudo, na sala de consultas, de forma asséptica e na veia cefálica. O sangue recolhido foi guardado à temperatura ambiente, num tubo com anticoagulante para posterior utilização. O *kit* Uranoteste *Dirofilaria* foi conservado à temperatura ambiente, para garantir a sua estabilidade até à data de validade marcada na caixa e na saqueta individual.

O processamento das amostras foi efetuado no laboratório da mesma clínica. O intervalo entre a colheita de sangue e a sua utilização foi o mais breve possível, entre 15 a 20 minutos depois de cada recolha.

## **2.4. Métodos laboratoriais**

Os métodos de diagnóstico usados para detetar *D. immitis* foram: o teste para deteção de antígeno Uranoteste Dirofilaria® (Urano®Vet) e o teste de Knott modificado.

### **2.4.1. Uranoteste Dirofilaria**

O teste de diagnóstico de Dirofilariose é uma técnica imunocromatográfica para a deteção qualitativa de antígeno de *D. immitis* no sangue. Os testes foram retirados do seu invólucro de alumínio e colocados numa superfície seca e plana.

O seu funcionamento baseia-se na colocação de duas gotas de sangue num pocinho com a ajuda de uma pipeta fornecida no *kit*. Como o teste é transparente, podemos ver a migração da amostra por capilaridade. Os resultados devem ser interpretados aos 5/10 minutos. Passado este intervalo, a interpretação deixa de ser válida. Se o resultado for negativo, aparecerá apenas uma banda de cor púrpura, na zona C. A banda da zona C aparece sempre, pois trata-se de uma banda de controlo que indica que o teste se realizou corretamente. Se o resultado for positivo, além da banda C, forma-se uma segunda banda na zona de teste (banda T). O resultado será inválido se não aparecer a banda C. Isto pode ser causado por erros do operador ou por testes em más condições de conservação e manuseamento (anexo 2).

### **2.4.2. Teste de Knott modificado**

O teste de Knott modificado é uma técnica de observação microscópica, que permite não só identificar microfilárias, como fazer a distinção através de medições da *D. immitis* e de outros parasitas como *A. reconditum*.

A execução deste procedimento consiste em misturar 1 ml de sangue contido num tubo de EDTA, com 9ml de formalina a 2%, sendo depois colocado numa centrífuga. Após a centrifugação, a porção líquida deve ser retirada, ficando apenas o sedimento ao qual se adiciona azul de metileno. Deve ser posteriormente colocado entre lâmina e lamela e observado ao microscópio, usando a objetiva de 100x para avaliar a presença de microfilárias e a de 400x para fazer distinção morfológica (Bowman, 2014).

## **2.5. Inquérito**

Os 50 proprietários dos cães que foram submetidos à colheita de amostras de sangue, responderam a um inquérito, correspondendo cada inquérito a um animal. Alguns inquiridos eram proprietários de mais de um cão participante no estudo e, portanto, responderam a mais de um inquérito. É importante referir que o inquérito em questão foi submetido a um pré-teste de controlo com 10 tutores. Este passo permitiu que se aferisse com maior exatidão, o tempo médio de resposta ao inquérito, o grau de dificuldade na resposta às respetivas perguntas e eventual necessidade de alteração dos parâmetros das mesmas.

O inquérito é constituído por 34 perguntas de escolha múltipla e de resposta fechada. Este inquérito estava dividido em 2 secções distintas. Uma primeira sobre informações sobre o animal e a sua rotina diária, e uma segunda sobre o conhecimento e hábitos de desparasitação contra a dirofilariose.

## **2.6. Processamento dos resultados e análise de dados**

Os resultados dos inquéritos, dos testes rápidos e do Knott modificado foram registados num ficheiro do programa Microsoft Excel 2007<sup>®</sup>.

## **3. Resultados**

### **3.1. Inquérito**

Um total de 50 inquéritos foram respondidos pelos proprietários de cada animal, sendo que cada inquérito corresponde a um animal.

#### **3.1.1. Identificação do animal**

A idade dos animais presentes no estudo, estava compreendida entre 1 a 18 anos, sendo a idade média de 6 anos.

Em relação à dispersão por sexo, 48% (24/50) dos indivíduos eram do sexo masculino e 52% (26/50) eram do sexo feminino (Gráfico 1).

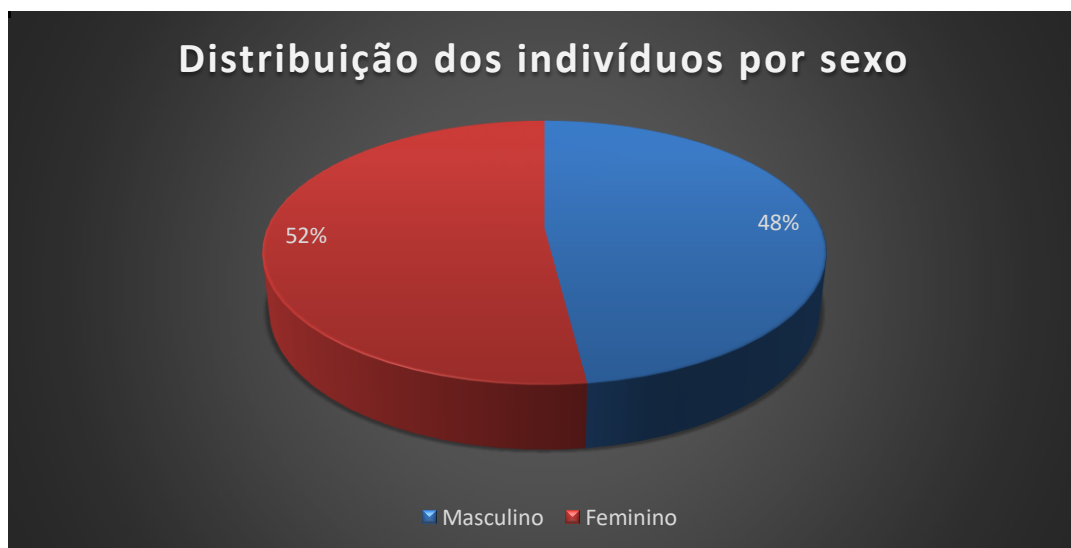


Gráfico 1 – Distribuição dos indivíduos por sexo.

Dos cães presentes no estudo, a maioria era de raça indeterminada, estando a sua distribuição por raça na Tabela 1.

Tabela 1 - Distribuição de raças dos canídeos associados ao estudo.

Raça	Frequência	Raça	Frequência
Indeterminada	30% (15/50)	Jack Russel Terrier	2% (1/50)
Bulldog francês	2% (1/50)	Dachshund	4% (2/50)
Yorkshire Terrier	4% (2/50)	Braco Alemão	2% (1/50)
American. Staffordshire Terrier	2% (1/50)	West Highland White Terrier	2% (1/50)
Caniche	6% (3/50)	Golden Retriever	4% (2 /50)
Beagle	4% (2/50)	Cocker Spaniel inglês	4% (2/50)
Shar Pei	2% (1/50)	Pinscher Miniatura	2% (1/50)
Labrador Retriever	12% (6/50)	King Charles Cavalier Spaniel	2% (1/50)
Cão de Pastor Alemão	2% (1/50)	Chihuahua	2% (1/50)
Rafeiro do Alentejo	2% (1/50)	Cão de Água Português	4% (2/50)
Schnauzer Miniatura	2% (1/50)	Cão da Serra da Estrela	2% (1/50)
Basset Hound	2% (1/50)		

Nenhum dos animais era utilizado como cão de caça.

Quanto à distribuição de acordo com o comprimento do pelo, 28% (14/50) apresentava pelo curto, 46% (23/50) pelo médio e 26% (13/50) pelo longo (Gráfico 2).



Gráfico 2 – Distribuição de indivíduos de acordo com o comprimento do pelo.

### 3.1.2. Caracterização da vida do animal

Relativamente à coabitação com outros animais, 56% (28/50) dos inquiridos responderam que o seu cão não coabitava com outros animais, 30% (15/50) disse que coabitavam com pelo menos 1 cão e 28% (14/50) com pelo menos 1 gato (Gráfico 3).

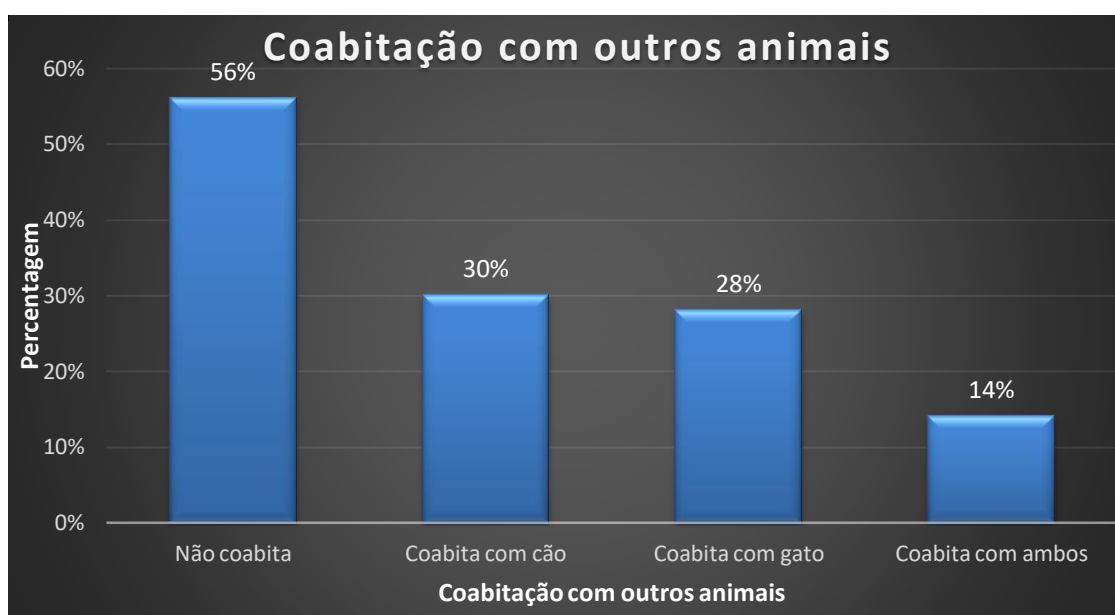


Gráfico 3 - Distribuição quanto à coabitação com outros animais.



Quanto ao modo de vida, 88% (44/50) dos inquiridos revelou que o seu cão habitava dentro de casa, enquanto 12% (6/50) tinha o seu animal no quintal (Gráfico 4).

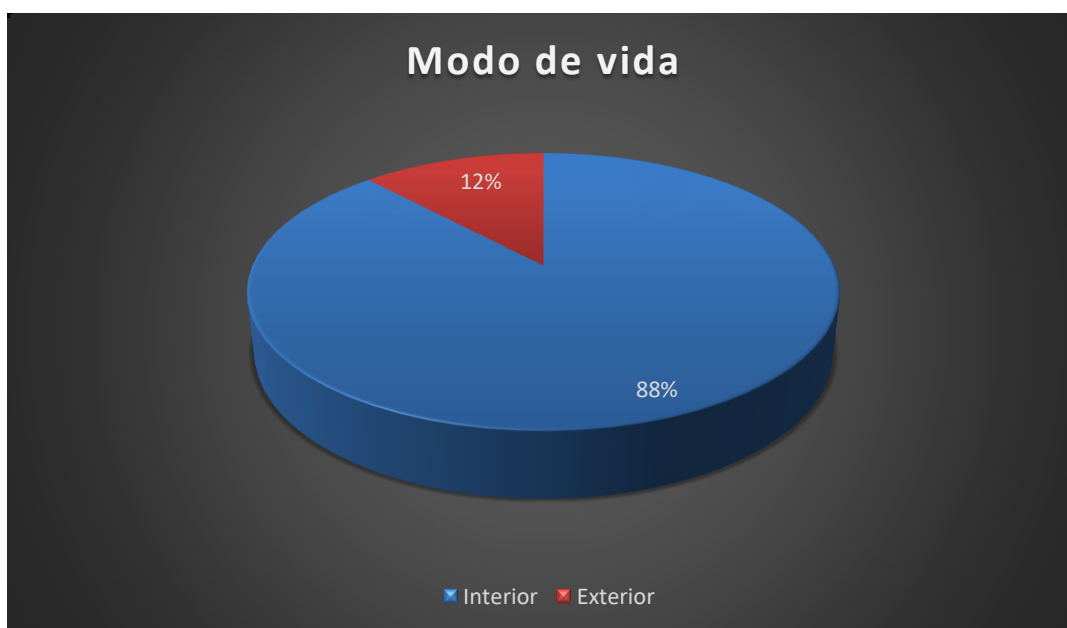


Gráfico 4 - Distribuição quanto ao modo de vida.

### 3.1.3. Características, frequência e hábitos de passeio dos animais

Quando questionados sobre as idas à rua, 88% (44/50) dos proprietários responderam que levavam o seu cão à rua diariamente, enquanto 12% (6/50) não o fazia (Gráfico 5).

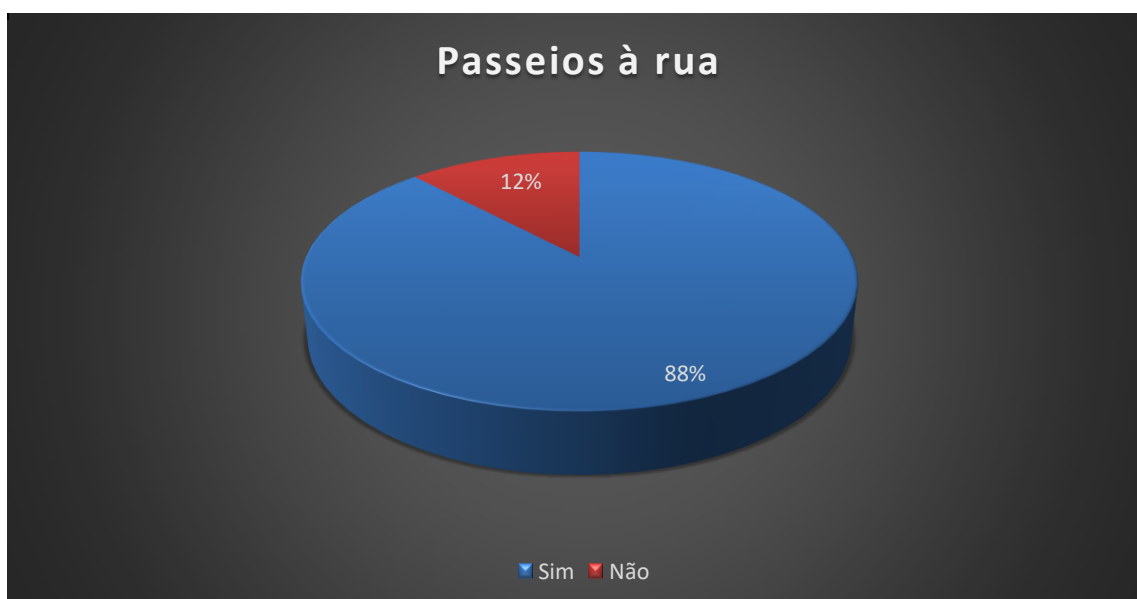


Gráfico 5 - Distribuição quanto às idas à rua.

Tabela 2 - Distribuição das frequências de passeios diários.

<b>Período dos passeios</b>	<b>Percentagem</b>
<b>Manhã</b>	93,2% (41/44)
<b>Tarde</b>	93,2% (41/44)
<b>Fim de tarde</b>	18,2% (8/44)
<b>Noite</b>	93,2% (41/44)

Na frequência diária das idas à rua, 2,3% (1/44) passeava o seu cão 1 vez por dia, 20,5% (9/44) 2 vezes por dia, 54,5% (24/44) 3 vezes por dia e 22,7% (10/44) 4 vezes por dia (Tabela 2).

Relativamente aos períodos do dia escolhidos para o passeio, 93,2% (41/44) dos donos responderam passear o seu cão durante a manhã, 72,7% (32/44) no período da tarde, 18,2% (8/44) durante o fim de tarde e 93,2% (41/44) faziam-no à noite (Tabela 3).

Tabela 3 - Distribuição do período dos passeios.

<b>Frequência de passeios</b>	<b>Percentagens</b>
<b>Uma vez por dia</b>	2,3% (1/44)
<b>Duas vezes por dia</b>	20,5% (9/44)
<b>Três vezes por dia</b>	54,5% (24/44)
<b>Quatro vezes por dia</b>	22,7% (10/44)

Em relação ao local dos passeios, 100% (44/44) dos inquiridos afirmaram passear com os seus animais nas ruas perto de sua casa, 34,1% (15/44) frequentava espaços verdes e 16% (7/44) andava em zonas com cursos de água. Quando questionados sobre se frequentavam outras zonas fora do concelho de Sintra com os seus cães, 75% (38/44) apenas frequentavam espaços próximos da zona de residência, enquanto 15% (6/44) usavam outras zonas do país para passear com os seus animais. Essas zonas são: Oeiras(2), Torres Vedras(1), Évora(1), Beja(2) e Ericeira(3).

Relativamente ao contacto com animais estranhos ao ambiente familiar, 18,2% (8/44) dos proprietários responderam que o seu animal nunca contactava com animais estranhos, 81,8% (35/44) admitiu que contactava com cães de fora e 20,5% (9/44) que contactava com

gatos vadios. Quanto à frequência destes contactos, 94% (34/36) afirmou que se davam todos os dias, enquanto 6% (2/36) disse que se davam 1 a 2 vezes por semana (Gráfico 6).



Gráfico 6 - Distribuição quanto ao contacto com outros animais.

#### 3.1.4. Conhecimento sobre dirofilariose

Do total de inquiridos, 24% (12/50) afirmaram já ter ouvido falar da dirofilariose, sendo que 76% (38/50) nunca tinham ouvido falar da doença (Gráfico 7).

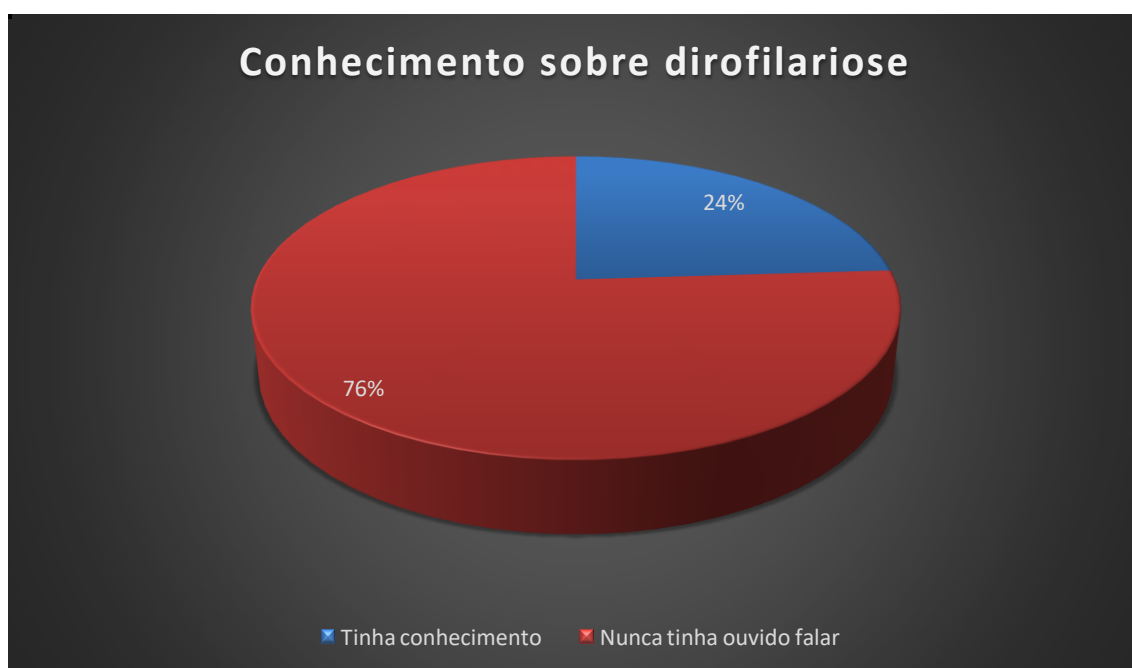


Gráfico 7 - Distribuição quanto ao conhecimento sobre dirofilariose.

Dos que responderam ter conhecimento sobre a dirofilariose, 41,7% (5/12) sabiam como se transmitia a doença, enquanto 58,3% (7/12) desconheciam o modo de transmissão.

Quando questionados sobre se tinham conhecimento de que esta doença podia ser transmissível ao Homem, 41,7% (5/12) respondem afirmativamente, sendo que os restantes 58,3% (7/12) desconheciam tal facto (Gráfico 8).

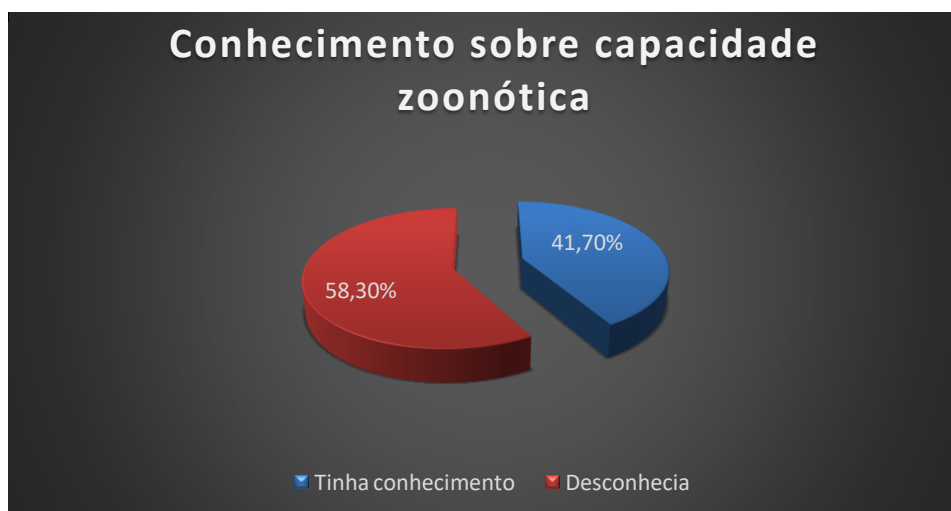


Gráfico 8 - Distribuição quanto ao conhecimento sobre a capacidade zoonótica da dirofilariose.

A totalidade dos proprietários (50/50) responderam também que o seu animal nunca teve dirofilariose.

### 3.1.5. Hábitos de desparasitação.

Quando questionados se desparasitavam os seus animais contra a dirofilariose, 72% (36/50) afirmou que o fazia, enquanto 28% (14/50) respondeu negativamente (Gráfico 9).



Gráfico 9 - Distribuição quanto à desparasitação contra a dirofilariose

Dos inquiridos que desparasitavam, 100% (36/36) referiu que o produto que utilizava era o Milbactor<sup>®</sup>. Todos os proprietários revelaram ainda que usaram sempre o mesmo produto. Relativamente ao uso de coleira desparasitante, apenas 10% (5/50) fazia prevenção, enquanto a maior parte, 90% (45/50), não usava coleira no seu animal (Gráfico 10).

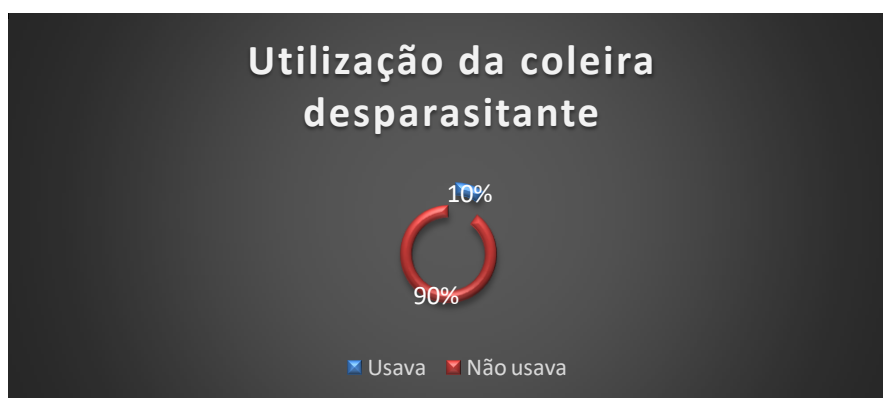


Gráfico 10 - Distribuição quanto ao uso de coleira desparasitante

Em relação a quem administrava o desparasitante ao seu animal, 69,4% (25/36) afirmou que era o próprio a administrar o comprimido e 30,6% (11/36) referiu ser o médico veterinário a fazê-lo.

Quanto à última desparasitação realizada, 16,7% (6/36) tinham feito há 2 meses, 69,4% (25/36) há 1 mês e os restantes 13,9% (5/36) há uma semana.

No parâmetro da frequência de desparasitação interna, 100% (36/36) dos inquiridos responderam fazê-lo de 3 em 3 meses (Tabela 4).

Tabela 4 - Distribuição quanto à frequência de desparasitação.

Frequencia de desparasitação interna	
Mês a mês	0%
2 em 2 meses	0%
3 em 3 meses	100% (36/36)

Relativamente ao que os levou a proceder à desparasitação interna, 16,7% (6/36) respondeu ter sido por iniciativa própria e 83,3% (30/36) revelou ter sido sugerido pelo médico veterinário (Gráfico 11).



Gráfico 11 - Distribuição quanto ao motivo que levou os donos dos cães a desparasitar.

Quanto às razões que os levaram a desparasitar o seu animal, 19,4% (7/36) revelaram que o faziam por prevenção e os expressivos 80,6% (29/36) admitiram não ter razões para o fazer e que apenas seguiam as indicações do médico veterinário.

## **3.2. Resultados laboratoriais**

### **3.2.1. Uranoteste *Dirofilaria***

Uranoteste<sup>®</sup> *Dirofilaria* foi o teste rápido utilizado para detecção qualitativa de antígeno de *D. immitis*. A realização do teste rápido não permitiu a identificação de animais positivos para *D. immitis*. Todos os testes tinham, ao fim dos 10/15 minutos de intervalo, apenas a banda da zona C visível. Assim, a totalidade dos testes realizados foram considerados válidos e as amostras classificadas como "não detecção de antígeno".

### **3.2.2. Teste de Knott modificado**

Esta técnica de observação permite a visualização de microfilárias e a avaliação da morfologia, permitindo fazer a distinção entre as diferentes espécies. Após a observação microscópica, com a objetiva de 100x, das 50 lâminas submetidas ao teste de Knott modificado, em 100% (50/50) das amostras não foi detectada a presença de microfilárias.

## **III - Discussão**

### **1. Inquérito**

#### **1.1. Identificação do animal**

A idade média dos animais era de 6 anos e todos os animais tinham pelo menos 1 ano de idade (entre 1 e 18 anos). Considera-se, portanto, que eram todos adultos e imunocompetentes. Não foi possível relacionar a idade com o risco de infecção, pois não foi encontrado nenhum animal que tivesse pelo menos um dos testes positivos. Em alguns estudos, os resultados apontam para um aumento do risco com o aumento da idade do animal (Pereira, 2010; Montoya et al, 1998; Jalali et al, 2010; Cringoli et al, 2001). Outros autores afirmam que os animais mais afetados situam-se na faixa etária dos 4 aos 7 anos (Pereira, 2010). Outros sugerem que são os animais com mais de 6 anos que apresentam uma maior prevalência (Song et. al ,2003). No entanto, alguma bibliografia sugere que não existe relação entre a idade do animal e o risco de infecção (Appleton GL e Arlian LG ,1979; Almeida et al, 2001).

Em relação ao sexo do animal, apesar de no presente estudo não ter sido registado qualquer relação, alguns autores apontam para uma maior prevalência em machos

relativamente às fêmeas. Estas constatações podem ser justificadas com a maior utilização de machos como cães de guarda e/ou de caça, que por se encontrarem mais tempo no exterior, acarreta uma maior exposição a potenciais vectores e a uma eventual infeção (Montoya et al, 1998; Traversa et al, 2010a e b; Jalali et al, 2010; Pereira, 2010; Rocha, 2010).

Como o resultado dos testes foi a não deteção de antígeno em todos os animais examinados, não foi possível fazer associação entre as raças dos cães e respetivo comprimento de pelo, com a vulnerabilidade dos animais à transmissão da dirofilariose. Alguns estudos revelam que podem haver prevalências superiores em animais com pelagem curta, do que as encontradas em animais com pelagem mais comprida (Appleton GL e Arlian LG, 1979). No entanto, existem outros estudos que contradizem esta hipótese e que consideram não haver correlação entre o comprimento do pêlo e o risco de infeção por *D. immitis*, justificando esta ideia com o facto dos mosquitos preferirem habitualmente zonas glabras para efetuar a sua alimentação (Pereira da Fonseca et al, 1991; Cringoli et al., 2001; Scaramozzino et al., 2005; Jalali et al., 2010; Pereira, 2010). Em relação às raças, alguns autores afirmam não haver diferenças nas prevalências entre cães de raça pura e cães de raça indeterminada (Pereira da Fonseca et al, 1991; Almeida et al, 2001), enquanto outros afirmam que é nos indivíduos de raça pura onde existe maior prevalência (Kan et al, 1977).

## **1.2. Características da vida do animal**

Apesar de a maioria dos inquiridos (56%) não ter outros animais em casa, uma parte significativa disse coabitar com pelo menos 1 cão (30%) ou com pelo menos 1 gato (28%), o que aumenta consideravelmente o risco de transmissão da doença. Apenas é necessário um animal parasitado, para haver uma propagação exponencial da dirofilariose, visto que o animal vai servir de fonte de infeção aos mosquitos vetores que irão propagar a doença a outros animais (AHS, 2014).

A quase totalidade dos animais permanecia dentro de casa (88%) enquanto uma minoria (12%) vivia em quintal, fazendo com que estes animais fiquem expostos mais facilmente ao perigo de picadas de mosquitos, o que aumenta consideravelmente o risco de que possam propagar a doença (Appleton e Arlian, 1979; Pereira, 2010). Em Portugal, a maioria dos donos tem um grande contacto físico com os seus animais, o que resulta num maior risco de potencial zoonótico, sendo, por isso, de primordial importância, a educação da população para o modo de transmissão das parasitoses zoonóticas.



### **1.3. Características, frequência e hábitos de passeio dos animais**

A maioria dos inquiridos passeava o seu cão diariamente (88%) e o modelo de passeio mais utilizado era o de 3 passeios por dia (54,5%). E, como referido anteriormente, quanto mais tempo um animal passa na rua, mais tempo está exposto ao risco de ser parasitado.

Relativamente ao período em que se efetuavam os passeios, a maior parte fazia-o de manhã e à noite (93%) e uma minoria (18,2%) ao fim da tarde. Estes períodos do dia são especialmente perigosos, pois correspondem aos períodos de maior atividade dos mosquitos vetores, que preferem os períodos nocturnos, de crepúsculo e ao amanhecer, para se alimentarem (Morchón et al, 2012).

O local por onde os cães passeiam também é de grande importância, neste caso em particular se os locais tiverem cursos de água. Os mosquitos preferem zonas com cursos de água, particularmente zonas de estuário que usam para colocar os seus ovos (Cardoso et al, 2012). Neste estudo, 34% dos inquiridos frequentava espaços verdes com os seus animais e 16% passeava em zonas adjacentes a cursos de água.

Para motivos do estudo, que se baseia em animais residentes no conselho de Sintra, havia importância em saber se os animais frequentavam outras zonas do país, para, no caso de ocorrer positividade, esta situação ser incluída na interpretação do resultado. Do total, 15% dos inquiridos passeavam com os seus animais por outras zonas do país, incluindo: Oeiras, Torres Vedras, Évora, Beja e Ericeira.

Quanto ao contacto com cães fora do ambiente familiar, 81,8% tinha contacto com cães na rua e 20,5 contactava com gatos. Este contacto diário com outros animais, que podem ser de estatuto sanitário desconhecido, constitui um fator de risco superior no que toca à transmissão de doenças parasitárias (ESCCAP, 2019).

### **1.4. Conhecimento sobre dirofilariose**

Apenas 24% dos inquiridos conhecia a doença e, destes, só 41,7% sabia o modo de transmissão. Os inquiridos demonstraram, na sua grande maioria, uma falta de conhecimento, tanto sobre a existência da doença, como no modo de transmissão, podendo ser uma das possíveis causas a falta ou deficiente comunicação entre os médicos veterinários e a população do concelho de Sintra com animais de companhia, com vista à exposição da doença, fatores de risco e protocolos preventivos.

A falta de conhecimento desta população em relação à infeção por *D. immitis*, é relatada noutros estudos, em que 88% dos inquiridos nunca tinha ouvido falar de dirofilariose ou do verme do coração e 85% desconhecia o termo zoonose (Matos et al, 2015). Em Vila Franca de Xira, verificaram-se percentagens semelhantes às encontradas no presente estudo, em relação ao conhecimento sobre a dirofilariose, 25,3% (Morgado, 2015). Mais recentemente,

em variadas zonas do país, foi verificado um conhecimento bastante superior sobre dirofilariose, com percentagens de 49,2% para o conhecimento da existência da doença e de 35,2% para o termo zoonose (Pereira et al, 2016).

A falta de conhecimento sobre esta parasitose pode ser explicada pelo facto de ser uma doença pouco divulgada e subvalorizada em algumas regiões. Os resultados seriam bem diferentes se estivéssemos a falar de leishmaniose, uma doença amplamente mais divulgada a nível nacional e bastante prevalente na zona em que foi efetuado o estudo em questão (Morgado, 2015).

### **1.5. Hábitos de desparasitação**

Uma grande parte dos donos desparasitava contra a dirofilariose (72%), sendo que o produto utilizado era o Milbactor<sup>®</sup> que contém milbemicina oxima, uma lactona macrocíclica considerada como uma das substâncias indicadas na prevenção da dirofilariose (ESCCAP, 2019).

Quanto ao uso de coleira repelente, apenas 10% colocava coleira no seu animal, que é uma percentagem bastante reduzida, visto que a coleira é um utensílio bastante útil como repelente de mosquitos, alguns dos quais transmissores de dirofilariose. Uma correta prevenção deve ser composta por protocolo profilático com uma lactona macrocíclica aliada a uma boa desparasitação externa, onde o uso de coleira pode ser muito útil para a diminuição da probabilidade da picada de mosquito (AHS, 2014).

A grande maioria (69,4%) dos inquiridos referiu que era o próprio a administrar o desparasitante ao seu animal. Este fator pode levar à má manipulação do produto e erros na administração que resultam na redução da eficácia da substância ativa e uma falha na proteção global do animal.

A totalidade dos proprietários fazia a desparasitação do seu animal trimestralmente, apesar de não ser o cenário ideal aconselhado pela maioria dos autores que propõe prevenção mensal contra a dirofilariose (ESCCAP, 2019; Matos et al, 2015; Alho et al, 2018).

A esmagadora maioria (83,3%) admitiu que foi o médico veterinário que sugeriu que o seu animal fizesse desparasitação. Quanto às razões que os levaram a aceitar fazer desparasitação ao seu animal, a grande maioria respondeu que apenas seguia as indicações do médico veterinário (80,6%) e só uma pequena parte o fazia por motivos preventivos. Estes dados permitem-nos perceber o papel de extrema importância do médico veterinário em relação à prevenção de doenças e saúde pública, tanto pelo seu conhecimento e pondo em prática as suas aptidões, como pela educação da população, levando à criação de hábitos que promovam uma melhor proteção da saúde animal e também da saúde humana.

## 1.6. Protocolos de desparasitação

Em relação à desparasitação, 72% dos animais faziam prevenção contra a dirofilariose e o produto usado era o Milbactor®. Todos os inquiridos seguiam o protocolo sugerido pela clínica para a desparasitação interna geral, que consistia numa administração 4 vezes por ano com intervalos de 3 meses.

Num estudo, em que foi elaborado um questionário, efetuado num hospital veterinário em Portugal, apenas 11,8% dos cães estavam a fazer o protocolo recomendado e apenas 28,4% estava protegido contra mosquitos. Além disso, 60% dos animais, que eram mantidos no exterior, não faziam uma desparasitação externa adequada (Matos et al, 2015).

Atualmente, não existe consenso quanto à prevenção da dirofilariose. Segundo a AHS, todos os animais que vivam em áreas endémicas, devem fazer prevenção anual com administrações mensais, começando o mais cedo possível e antes das 8 semanas de idade. Segundo a ESCCAP, os animais que habitam em áreas endémicas devem fazer uma prevenção mensal contra a dirofilariose durante a época de maior risco de transmissão. Este protocolo de prevenção deve começar antes do início desta época de risco e deve terminar depois desta acabar. A CPEP aconselha a prevenção mensal apenas em animais de zonas endémicas, nos períodos de risco de transmissão, começando antes e acabando depois da época de maior risco. Nas restantes áreas, a CPEP aconselha a testagem anual para avaliação do risco de infeção por *D. immitis*, não aconselhando administrações empíricas. Por outro lado, a CAPC recomenda que todos os animais devem fazer prevenção anual, independentemente do estatuto endémico das áreas em que se encontram (CPEP, 2009; AHS, 2014; CAPC, 2016; ESCCAP, 2017).

## 2. Prevalência de *D. immitis*

Relativamente aos meios de diagnóstico usados, neste estudo, na deteção de animais parasitados por *D. immitis*, foram utilizados o teste de imunocromatografia Uranoteste® Dirofilaria para a deteção de fêmeas adultas e o teste de Knott modificado para a deteção de microfilárias.

Neste estudo, a prevalência de *D. immitis*, tanto no teste rápido de imunocromatografia, como no teste de Knott modificado foi de 0%. É provável que, neste estudo, como a população alvo era composta exclusivamente por animais que tinham assistência médico-veterinária, a prevalência seja muito baixa ou mesmo nula. Esta pode ser justificada por os animais terem à sua disposição melhores condições de alimentação, bem-estar, cuidados médicos e segurança, do que animais errantes ou de canil. Além disso, os donos destes

animais, que visitam regularmente o veterinário, estão mais bem informados e sensibilizados para os fatores de risco desta doença, incluindo o papel do mosquito vetor na propagação da doença e da necessidade de prevenção. No sentido contrário, se este estudo tivesse sido efetuado em cães errantes, de canil ou com donos que não os levem à visita regular ao veterinário, provavelmente teriam sido obtidos resultados positivos, pois estes animais vivem em condições precárias, levando a que estejam mais expostos ao vetor e que tenham condições físicas e de alimentação de bastante debilidade.

Apesar de muito remota, devido à alta sensibilidade e especificidade dos testes, poderão existir casos de infeção não detetada quando o animal apresenta infeções muito leves, com apenas um ou dois parasitas adultos, ou infeções com parasitas imaturos ou com indivíduos apenas do sexo masculino que não são detetados pelo teste, que apenas deteta antígenos provenientes de fêmeas (Couto e Nelson, 2014).

Os estudos realizados anteriormente, apesar de bastante importantes para o conhecimento da natureza da parasitose, devem ser repetidos e atualizados com a nova realidade da doença. A dinâmica da infeção faz com que seja fácil a emergência de novos focos da doença e a consequente propagação do parasita para zonas que até aí estavam livres ou que tinham até então pouca prevalência da doença (ESCCAP, 2019).

Alguns destes estudos utilizavam apenas um método de diagnóstico, sendo a deteção de microfilárias pelo teste de Knott modificado ou a deteção de antígeno com técnicas de imunocromatografia os mais utilizados, o que devido, às características biológicas do parasita, pode levar à ocorrência de falsos negativos. O recomendado, nestes casos, seria a utilização de combinações de testes de diagnóstico quando pretendemos fazer estudos epidemiológicos, de modo a reduzir o aparecimento de falsos negativos (Bowman, 2014).

Em Portugal, num estudo que envolveu 120 clínicas veterinárias, as prevalências serológicas em animais sem e com sinais clínicos de doenças transmitidas por vetores foram de 2,9% a 3,4% no norte do país, 0,9% a 7,4% no centro, entre 4,7% e 14% no Alentejo, 2,4% a 5,8% em Lisboa e de 5,1% a 17,1% no Algarve (Cardoso et al, 2012). Noutro estudo, foi observada uma prevalência de 13,8% a 24,8% em Coimbra, Santarém e Setúbal (Alho et al, 2014c). Em 2015, foi encontrada uma prevalência de 9,4% no sul do país (Maia et al, 2015). Em cães em que eram praticadas medidas quimioproláticas, a prevalência observada ficou nos 0,8% (Vidal et al, 2014). Num estudo em Vila Franca de Xira, a seroprevalência foi de 12,2% e de 10% para pesquisa de microfilárias (Santos, 2014).

Num estudo em Coimbra, a prevalência foi de 13% (ambos os testes) (Landum, 2012). Noutros 2 estudos em Santarém, a prevalência foi de 16,7% e de 14,8% pelo método de Knott (Pereira da Fonseca et al, 1991). Em Setúbal, foi de 37,5% (Landum, 2012). Em dois estudos na região da Madeira, foi estimada uma prevalência de 30% (Pereira da Fonseca et

al, 1991; Genchi et al, 2005). No litoral alentejano, a prevalência média foi de 22,8% (Faria, 2015).

Apesar dos constantes avanços no diagnóstico desta doença, ainda existem muitas incógnitas na perceção da propagação da doença. Para além disso, o facto de poder ter uma variedade muito grande de sinais clínicos inespecíficos, faz com que seja frequentemente tratada como outra doença mais prevalente na região, sendo esta a razão por que se pensa que a dirofilariose é subdiagnosticada (Alho et al, 2018).

Este estudo, contudo, apresenta algumas limitações na extrapolação dos seus resultados, para a totalidade da população canina do Concelho de Sintra, uma vez que foram utilizados apenas 50 animais. Podem ocorrer falsos negativos devido a baixas concentrações de antígeno, infeções unissexo ou baixo número de fêmeas adultas. Além disso, podem haver fatores no plasma que inibam a deteção de antígeno pelos testes (Velasquez et al, 2014). Para tentar superar estes inconvenientes, foi aliado ao teste de antígeno o teste modificado de Knott, que permite detetar algumas infeções ocultas e detetar alguns falsos negativos (Taylor et al, 2016).

A dirofilariose é, hoje em dia, uma doença que lança um grande desafio à comunidade médico-veterinária em termos de saúde pública, não só por ser uma doença de difícil diagnóstico, como pela existência de animais que funcionam como reservatórios naturais. Estas interações entre animal doméstico, reservatório e humano, tomam proporções significativas, principalmente nos meios rurais ou suburbanos, onde se espera que as barreiras entre estas três variantes sejam mais escassas (Simón et al, 2012).

Além disso, na última década, tem havido a expansão desta doença para áreas em que era anteriormente desconhecida, sendo um problema tão grave que alguns países já criaram clínicas especializadas em tratamento de dirofilariose (Taylor et al, 2016). A doença tem-se expandido principalmente para o centro e nordeste europeu, estando a ser reportados casos em países que até então estavam livres do parasita. Esta tendência é devido à crescente movimentação de animais infetados, às alterações climáticas, novas espécies de vetores e também a uma maior sensibilização da comunidade médico-veterinária para o diagnóstico desta doença (Morchón et al, 2012). Nestes países, deve haver um maior controlo com recurso a testes antígeno regulares e o uso de protocolos preventivos eficazes, principalmente em animais que forem viajar, para que não se contribua para a dispersão da doença (ESCCAP, 2019).

Um aspeto importante desta parasitose é o seu potencial zoonótico, sendo considerada endémica em vários países europeus como a Itália, França, Hungria, Grécia, República Checa, Turquia, Espanha, Portugal, entre outros (ESCCAP, 2019; Morchón et al, 2012). Apesar da maioria dos casos detetados de dirofilariose em humanos ser causada por *D. repens*, em Portugal não se encontra recentemente nenhum caso autóctone de dirofilariose humana. No entanto, se levarmos em conta estudos em Espanha e em Itália que

demonstram que 30% de pessoas saudáveis apresentam anticorpos contra *Dirofilaria* sp. (Landum, 2012) e considerando os resultados de um estudo realizado numa população humana em Espanha, em que mostra uma sero-prevalência de 11% contra antígenos de *D. immitis* (Genchi et al., 2011), é possível a existência de casos humanos em Portugal.

Com base nestas informações podemos indagar-nos sobre qual será o panorama desta doença zoonótica no nosso país, pois onde existe dirofilariose canina existe, o risco de ocorrer infeção em humanos (Simón et al, 2012). E a possibilidade de casos de infeções humanas ocultas em Portugal, como revelou um inquérito recente efetuado à classe médica no nosso País, parece ser mais real do que se pensava (Belo et al, 2014).

Relativamente à sua distribuição, apesar de haver variações ao risco de exposição em todo o território português, devemos considerar como uma parasitose que engloba todo o país. Outro aspeto importante são as alterações climáticas a que estamos sujeitos, que farão, num futuro próximo, aumentar os casos de dirofilariose, tanto em áreas endémicas como não endémicas. Devido ao aquecimento global, a periodicidade anual dos mosquitos tem-se prolongado cada vez mais, reduzindo, ao mesmo tempo, o tempo necessário para o desenvolvimento larvar. Ao mesmo tempo, tem-se verificado o aumento da taxa de sobrevivência do vetor e do parasita e da sua área onde ocorre a infeção. Verificamos assim, que as condições climáticas estão a ficar cada vez mais propícias à disseminação da doença, resultando no aumento da prevalência e no aparecimento de novas áreas de infeção (Alho et al, 2014).

Este facto faz com que agora, mais do que nunca, devam alertar a comunidade médico-veterinária para a possível ascensão desta doença, fazendo com que esta entre mais frequentemente nos diagnósticos diferenciais e que esteja mais presente nos protocolos profiláticos não só pelos seus danos na saúde animal, mas também pela sua capacidade zoonótica (Alho et al, 2018).

#### **IV- Conclusão**

No final do estudo em questão, verificou-se que nenhum dos animais que era seguido regularmente num CAMV no Concelho de Sintra se apresentou positivo ao teste rápido e ao teste de Knott. Este facto parece evidenciar, entre outros, a importância de fazer um programa de prevenção contra parasitas internos nos animais de companhia, principalmente em doenças com carácter zoonótico.

A transmissão de *D. immitis* é influenciada por vários fatores de risco e, através do questionário, foi possível perceber a quais destes fatores a maioria da população canina deste estudo estava exposta. Grande parte dos animais vivia dentro de casa, o que reduzia em grande parte o risco da picada por vetores. No entanto, a grande maioria passeava nas horas em que o mosquito tem maiores períodos de atividade. Uma parte significativa dos

inquiridos passeava o seu cão em zonas com cursos de água, que constitui um fator de risco importante, pois os mosquitos necessitam de cursos de água para a sua reprodução e, por consequência, onde haverá maior concentração de vetores. Os inquiridos também admitiram que o seu cão contactava regularmente com cães de estatuto sanitário desconhecido, podendo os mesmos estar infetados e servir de fonte de infeção para os mosquitos vetores, propagando a doença para outros animais. É extremamente importante determinar quais os fatores de risco existentes na área em que o cão se encontra, não se podendo considerar um cão bem cuidado como isento de risco.

Relativamente à dirofilariose, podemos constatar que existe uma grande parte dos tutores que não tem conhecimento sobre a doença, apesar de ser uma das parasitoses de maior importância na saúde animal. Esta falta de conhecimento parece existir devido a alguma falta de comunicação entre o proprietário do animal e o médico veterinário, apesar de, atualmente, existirem inúmeras fontes de informação, seja pela internet ou em forma física, como livros ou panfletos existentes nas clínicas e hospitais veterinários e nos CAMV. Este dado estatístico só vem a confirmar que existe uma dificuldade em filtrar e apresentar a informação de maior relevância e na dificuldade que parece existir no veterinário, em ter um papel mais ativo na sensibilização da população sobre protocolos de desparasitação.

Nos dias de hoje, existe um problema emergente e bastante divulgado: as resistências a fármacos desparasitantes, que têm implicações muito graves na eficácia do tratamento das parasitoses em cães de todo o mundo. O uso inapropriado de fármacos está na base deste problema, servindo para seleccionar populações de parasitas resistentes (AHS, 2014). Em Portugal, não existem regularmente ações que visem comprovar a eficácia terapêutica de fármacos. Parece existir, ao nível da população médico-veterinária mundial, a despreocupação com a existência e/ou criação de novas resistências. Em Portugal, não se verifica diferenças, sendo recomendados muitos protocolos de desparasitação sem verificação da sua eficácia.

Podemos concluir que os métodos de controlo têm sido eficazes, mas que devem ser mantidos, aperfeiçoados e cada vez mais incentivados a quem ainda não os pratica, principalmente nos animais que pertencem a grupos de risco. Neste aspeto, é de primordial importância a ação no controlo dos reservatórios naturais (cães errantes). Este procedimento é efetuado pela SPAD, que submete a eutanásia os animais errantes e sem identificação, nos quais é confirmada a infeção por *Dirofilaria immitis*. Desta forma, ao aliarmos o tratamento e prevenção da população assistida medicamente e a redução de animais errantes que sejam fontes reservatório, estamos a controlar a propagação da doença de forma direta e indireta.

No nosso país, apesar de os estudos sobre dirofilariose serem reduzidos, estes têm contribuído para termos a noção do panorama geral da doença no nosso território. Apesar disso, novos estudos são sempre necessários para que haja atualização da informação

sobre a doença, uma vez que, por toda a Europa, têm emergido cada vez mais casos, tanto de infeção humana, como por aparecimento de novos animais reservatório. Este aumento de casuística acontece, não só nos de estatuto indomado, mas também em países em que anteriormente não existia relatos da transmissão da doença, surgindo como uma doença emergente.

Estes aspetos levam a que mais estudos sobre dirofilariose na população canina portuguesa devam ser elaborados, abrangendo amostras mais numerosas e grupos de risco, tais como cães domésticos que não frequentam habitualmente o veterinário, cães errantes e cães assilvestrados. Procurando assim identificar grupos de risco, que culminem com a criação de campanhas de sensibilização, rastreamento e prevenção da dirofilariose, tanto junto dos tutores como em canis privados e municipais. Neste caso, é particularmente interessante a realização destes estudos, pelos seus microclimas específicos e fauna silvestre que se encontram particularmente na região da serra de Sintra.

## **V- Recomendações e Perspetivas Futuras**

Na actualidade, um dos grandes problemas na prevenção e controlo das doenças parasitárias zoonóticas, como é o caso da dirofilariose, é a dificuldade da população em aderir aos protocolos recomendados. Um dos pilares para melhorar e combater esta nuance parece ser o Médico Veterinário, através de uma maior e melhor comunicação com o público, de modo a que consiga transmitir a importância da adesão a protocolos preventivos eficazes e o modo de transmissão da dirofilariose. Este passo pode ser facilmente obtido nas consultas anuais de rotina a que a maioria dos animais recebe. Um dos elementos essenciais para a correta transmissão da informação, é torná-la mais simples e concisa, bem como tentar suscitar o interesse dos proprietários no tema.

Outro problema é a perpetuação da transmissão devido a hospedeiros selvagens, que devido à dificuldade em fazer a prevenção, vão servindo de reservatório para a infeção, fazendo com que seja praticamente muito difícil a erradicação do parasita. Também a descoberta constante de novos vetores capazes de fazer a transmissão da doença, faz com que se coloquem entraves nos meios de prevenção contra esses mesmos vetores. Aliado a estes dois fatores, surgem também as alterações climáticas que, parece ser consenso entre vários autores, vão fazer com que a prevalência aumente nas áreas mais afetadas, mas mais grave ainda, que se alastre para zonas onde até então não havia registo da dirofilariose.

Mesmo sendo uma doença comum, tanto nos animais domésticos, como em selvagens, ainda existe muito para descobrir sobre a dirofilariose, pelo que pode ser interessante que mais trabalhos como este sejam executados com mais frequência e que sejam distribuídos pelos vários concelhos do país. Deste modo, teremos sempre um panorama atual, tanto das



zonas afetadas, como de quais os protocolos preventivos a ser utilizados e qual o seu grau de adesão.

Por fim, nunca é demais lembrar a responsabilidade que deve ser inculcada a cada tutor na correta profilaxia do seu animal, devendo este aconselhar-se com o seu Médico veterinário sobre quais os protocolos que deve seguir, tendo sempre em conta o estilo de vida e os fatores de risco a que o animal está sujeito. Sendo neste ponto que o Médico Veterinário deve insistir, passando este sentido de responsabilidade para os tutores e fazendo-os constatar que basta um animal fazer uma má profilaxia para comprometer toda uma população. Devemos também inculcar que todos temos de cumprir o nosso papel na sociedade, trabalhando assim para o bem comum que é a saúde pública.

## Bibliografia

- Abraham D., Grieve R.B. (1990) Genetic control of murine immune responses to larval *Dirofilaria immitis*. J Parasitology.76,523-528.
- Abraham D, Grieve R.B., Mika-Grieve, M. (1988). *Dirofilaria immitis*: surface properties of third- and fourth-stage larvae. Exp Parasitolol. 65,157-167.
- AHS (2014) Current Canine Guidelines for the Prevention, Diagnosis, and management of Heartworm (*Dirofilaria immitis*) Infection in Dogs. Acedido em Maio de 2018, disponível em : [https://d3ft8sckhnqim2.cloudfront.net/images/pdf/2018-AHS-Canine Guidelines.pdf?1536875870](https://d3ft8sckhnqim2.cloudfront.net/images/pdf/2018-AHS-Canine%20Guidelines.pdf?1536875870)
- Alho, A.M., Meireles,J., Belo,S. e Madeira de Carvalho, L.M. (2014a) Dirofilariose canina e felina , uma parasitose em evolução (I) - Etiologia,Biologia e Epidemiologia. Prática clínica, 20-26.
- Alho, A.M., Meireles, J., Belo, S. e Madeira de Carvalho , L.M. (2014 b) Dirofilariose canina e felina, uma parasitose em evolução (II) - Fisiologia, diagnóstico e terapêutica. Prática clínica, 26-32.
- Alho,A.M., Schnyder M., Meireles J. , Belo S., Desplazes P., Madeira de Carvalho L.M. (2014c). Preliminary results on the seroprevalence of *Angiostrongylus vasorum* and co-infection with *Dirofilaria immitis* in shelter dogs from Portugal.
- Alho, A.M., Landum, M., Ferreira, C., Madeira de Carvalho, L.M. & Belo, S. (2014d) Prevalence and seasonal variations of canine Dirofilariosis in Portugal. *Veterinary Parasitology*, 206.
- Alho, A.M., Cortes, H., Lopes, A.P., Vila-Viçosa, M.J., Cardoso, L., Belo, S., Madeira de Carvalho, L. M. (2016a). Detection of *Dirofilaria immitis* antigen in red foxes (*Vulpes vulpes*) from Portugal. *Parasit. Vectors* 10 (1), A16.
- Alho, A.M., Fiarresga, A., Landum, M., Lima, C., Gamboa, O., Meireles, J., Sales Luís, J. & Madeira DE Carvalho, L.M. (2016) A Homemade Snare: An Alternative Method for Mechanical Removal of *Dirofilaria immitis* in Dogs. *Vet. Med.International*, Vol. 2016, Article ID 5780408, 6 pages. DOI <http://dx.doi.org/10.1155/2016/5780408>
- Alho, A.M.P.V. de A. (2017). *Dirofilaria immitis* and *Angiostrongylus vasorum*: Epidemiology and impact of major heartworms in carnivores in Portugal. Ph.D thesis, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa, 227 pp.
- Alho, A.M., Marcelino, I., Colella, V., Flanagan, C., Silva, N., Correia, J.J., Latrofa, M.S., Otranto, D., Madeira de Carvalho, L., 2017. *Dirofilaria immitis* in pinnipeds and new host record. *Parasit. Vectors* 10, 142.
- Alho A.M., Meireles J., Schnyder M., Cardoso L., Belo S., Deplazes P., Madeira de Carvalho L.M. (2018). *Dirofilaria immitis* and *Angiostrongylus vasorum*: The current situation of two major canine heartowrms in Portugal.*Veterinary parasitology* 252,120-126
- Almeida C. (2010). Prevalencia de dirofilariose felina na regioao do Sado. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinaria, FMV-UTL,Lisboa
- Almeida, M.A.O., Barros, M.T.G., Santos, E.P., Ayres, M.C.C., Guimarães J.E. (2001) "Parasitismo de cães por microfilárias de *Dirofilaria immitis*: influência da raça, sexo e idade." In Revista Brasileira Saúde Animal 2 , 59-64
- Anderson, R.C. (2000). Nematode parasites of vertebrates their development and transmission. 2nd ed. CABI publishing, United Kingdom, 483-486.

- Appleton, G.L. & Arlian LG (1979) "Canine filariasis in southwestern Ohio" In Ohio Journal Sciences 79, 136
- Atkins, C.E. (2003). Comparison of results of three commercial heartworm antigen test kits in dogs with low heartworm burdens. *J Am Vet Med Assoc.* 222,1221-1223.
- Atkins, C.E., Keene, B.W., McGuirk, S.M. (1988) Pathophysiologic mechanism of cardiac dysfunction in experimentally induced heartworm caval syndrome in dogs: an echocardiographic study. *Am J Vet Res.*49,403-410.
- Araujo, A.M. (1996). Canine and human *Dirofilaria immitis* infections in Portugal. A review. In *Parassitologia* 38,366.
- Atwell, R.B., Buoro, I.B.J. (1988). Caval syndrome. In Boreman PFL, Atwell RB (eds): *Dirofilariasis*. Boca Raton, FL: CRC Press, 191-203.
- Bazzocchi, C., Mortarino, M., Grandi, G., Kramer, L.H., Genchi, C., Bandi, C., Genchi, M., Sacchi, L., McCall, J.W. (2008). Combined ivermectin and doxycycline treatment has microfilaricidal and adulticidal activity against *Dirofilaria immitis* in experimentally infected dogs. *Int J Parasitology.*38,1401-1410.
- Belo, S, Afonso, A, Gonçalves, L. (2014) Dirofilariose humana em Portugal: parasitose desconhecida ou negligenciada?. *Acta Parasitológica Portuguesa*, 20 (1/2): 103.
- Ballesteros,C., Pulaski, C.N., Bourguinat, C., Keller, K., Prichard, R.K., Geary, T.G. (2018). Clinical validation of molecular markers of macrocyclic lactone resistance in *Dirofilaria immitis*. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*. Volume 8 issue 3, 596-606.
- Benedict, M,Q., Levine, R.S., Hawley, W.A., Lounibos, L.P. (2007). Spread of the tiger: global risk of invasion by the mosquito *Aedes albopictus*. *Vector Borne Zoonotic Diseases.* 7,76-85.
- Beugnet, F., Halos, L., Guillot, J.(2018) Textbook of Clinical Parasitology in dogs and cats. Servet editorial. Grupo Asis Biomedia, SL.
- Blagburn, B.L., Dillon, A.R., Arther, R.G., von Simson, C., Zolynas. R. (2011). Comparative efficacy of four commercially available heartworm preventive products against the MP3 laboratory strain of *Dirofilaria immitis*. *Veterinary Parasitology.* 176,189-194.
- Blagburn, B.L., Bowles, J., Loechel, R., Carmichael, J., Schenker, R., Roycroft, L. (2013) Evidence of genetic selection following treatment of a heartworm-infected, microfilaremic dog with increasing dosages of ivermectin. In *Proceedings of the AAVP 58th Annual Meeting*. Chicago, IL, 64.
- Blagburn B.L.,Arther R. G.,Dillon AR, Butler J.M., Bowles J.V., Simson C., Zolynas, R.(2016) Efficacy of four commercially available preventive products against JYD-34 laboratory strain of *Dirofilaria immitis*. In *Heartworms Today: Proceedings of the 2016 Triennial Symposium*, New Orleans, LA, 1-10.
- Bouchery, T., Lefoulon, E., Karadjian, G., Nieguitsila, A., Martin, C. (2013). The symbiotic role of *Wolbachia* in Onchocercidae and its impact on filariasis. *Clin Microbiol Infect.* 19,131-140.
- Bourguinat, C., Keller, K., Bhan, A., Peregrine, A.S., Geary, T., Prichard, R. (2011a) Macrocyclic lactone resistance in *Dirofilaria immitis*. In *Proceedings of the AAVP 56th Annual Meeting*, St. Louis, MO , 108.

Bourguinat, C., Keller, K., Prichard, R.K., Geary, T.G. (2011b) Genetic polymorphism in *Dirofilaria immitis*. *Vet Parasitology*. 176,368-373.

Bourguinat, C., Lee, A.C.Y., Lizunda, R., Blagburn, B.L., Liotta, J.L., Kraus, M.S., Keller, K., Epe, C., Letourneau, L., Kleinman, C.L., Paterson, T., Gomez, E.C., Montoya-Alonso, J.A., Smith, H., Bhan, A., Peregrine, A.S., Carmichael, J., Drake, J., Schenker, R., Kaminsky, R., Bowman, D.D., Geary, T.G., Prichard, R.K. (2015). Macrocyclic lactone resistance in *Dirofilaria immitis*: Failure of heartworm preventives and investigation of genetic markers for resistance. *Veterinary Parasitology*, 210, 167-178

Bowman, D.D. (2014) *Georgis` Parasitology for Veterinarians*. 10<sup>th</sup> Ed. Missouri: Elsevier Saunders.

Bowman, D.D., Atkins, C.E. (2009). Heartworm biology, treatment, and control. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 39,1127-1158.

Calvert, C.A. (1986). Treatment of heartworm disease with associated severe pulmonary arterial disease. In *Proceedings of the Heartworm Symposium '86*, New Orleans. American Heartworm Society, 125-129.

Cancrini, G. & Gabrielli, S. (2007). Chapter 3: Vectors of *Dirofilaria* nematodes: biology, behaviour and host/parasite relationships. In Genchi, C., Rinaldi, L., Cringoli, G., (Eds.), 2007. *Mappe Parassitologiche: Dirofilaria immitis* and *D.repens* in dog and cat and human infections. Italy: Rolando Editore. 48 - 58.

CAPC (2016) Companion Animal Parasite Council. Parasite Guidelines-Heartworm. Acedido em Maio de 2018 e disponível em : <https://capcvet.org/guidelines/heartworm/>

Cardoso, L., Mendão, C., Madeira de Carvalho, L., 2012. Prevalence of *Dirofilaria immitis*, *Ehrlichia canis*, *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Anaplasma* spp. and *Leishmania infantum* in apparently healthy and CVBD-suspect dogs in Portugal—a national serological study. *Parasites Vectors* 5, 62.

Case, J.L., Tanner, P.A., Keister, D.M., Meo, N.J. (1995). A clinical field trial of melarsomine dihydrochloride (RM340) in dogs with severe (class 3) heartworm disease. In *Proceedings of the Heartworm Symposium '95*, Auburn, AL. American Heartworm Society, 243-250.

Casimiro, E., Calheiros, J., Santos, F.D., Kovats, S., 2006. National assessment of human health effects of climate change in Portugal: approach and key findings. *Environ. Health Perspect.* 114, 1950–1956.

Christensen, B.M., Hollander, A.L. (1978) Effect of temperature on vector parasite relationships of *Aedes trivittatus* and *Dirofilaria immitis*. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*. 45,115-119.

Courtney, C.H., Cornell, J.A. (1990) Evaluation of heartworm immunodiagnostic tests. *J Am Vet Med Assoc*.197,724-729.

Courtney, C.H., Zeng, Q.Y. (2001). Comparison of heartworm antigen test kit performance in dogs having low heartworm burdens. *Vet Parasitol.* 96,317-322.

CPEP(2009) Canadian Guidelines for the Treatment of Parasites in Dogs and Cats. Acedido em maio de 2018 e disponível em: <https://www.wormsandgermsblog.com/files/2008/03/CPEP-guidelines-ENGLISH1.pdf>

Cringoli, G; Rinaldi, L; Veneziano, V and Capelli, G (2001). A prevalence survey and risk analysis of filariasis in dogs from the Mt. Vesuvius area of southern Italy. *Veterinary Parasitology*, 102, 243-252

CVBD ® Canine Vector - Borne Diseases. Acedido em Maio de 2018. Disponível em: <http://www.cvbd.org/en/mosquito-borne-desiases/heartworm-desiase/pathogen/>

CVBD ® Canine Vector - Borne Diseases. Acedido em Maio de 2018. Disponível em: <http://www.cvbd.org/en/mosquito-borne-desiases/heartworm-desiase/pathogenesis/>

Dillon, A.R., Brawner, W.R., Hanrahan, L. (1995a) Influence of number of parasites and exercise on the severity of heartworm disease in dogs. In *Proceedings of the Heartworm Symposium '95*, Auburn, AL. American Heartworm Society, 113.

Dillon, A.R., Warner, A.E., Molina, R.M. (1995b) Pulmonary parenchymal changes in dogs and cats after experimental transplantation of dead *Dirofilaria immitis*. In *Proceedings of the Heartworm Symposium '95*, Auburn, AL. American Heartworm Society, 97-101.

Direção-Geral da Saúde, 2017. Comunicado do Director-Geral da Saúde sobre a identificação da espécie de mosquito na região norte do País. acedido em Maio de 2018 , disponível em : <https://www.dgs.pt/a-direccao-geral-da-saude/comunicados-e-despachos-do-director-geral/identificacao-de-nova-especie-de-mosquito-na-regiao-norte-do-pais.aspx>

Eira, C., Vingada, J., Torres, J., Miquel, J., 2006. The helminth community of the red fox, *Vulpes vulpes*, in Dunas de Mira (Portugal) and its effect on host condition. *Wildl. Biol. Pract.* 1, 26–36.

ESCCAP (2017) Worm control in Dogs and Cats. Acedido em Maio de 2018, disponível em :[https://www.esccap.org/uploads/docs/0x0o7jda\\_ESCCAP\\_Guideline\\_01\\_Third\\_edition\\_July\\_2017.pdf](https://www.esccap.org/uploads/docs/0x0o7jda_ESCCAP_Guideline_01_Third_edition_July_2017.pdf)

ESCCAP(2019) Control of Vector-Borne Desiases in Dogs and cats. Acedido em Março de 2019, disponível em :[https://www.esccap.org/uploads/docs/i3m71z28\\_0775\\_ESCCAP\\_Guideline\\_GL5\\_v8\\_1p.pdf](https://www.esccap.org/uploads/docs/i3m71z28_0775_ESCCAP_Guideline_GL5_v8_1p.pdf)

Ettinger, S J., Feldman, E.C. (2010). *Textbook of Veterinary Internal Medicine*. Volume 2. 7th ed. Saunders Elsevier, 1353-1373.

Evans, C.C, Moorhead, A.R., Storey, B.E., Wolstenholme, A.J., Kaplan, R.M. 2013 Development of an in vitro bioassay for measuring susceptibility to macrocyclic lactone anthelmintics in *Dirofilaria immitis*. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance* 3, 102–108

Faria, S.H.(2015). Estudo Retrospectivo da dirofilariose Cardiopulmonar numa população de Canídeos do Litoral Alentejano, Portugal. Tese de mestrado integrado em medicina veterinária. Lisboa. Faculdade de Medicina veterinária-Universidade de Lisboa.

Ferreira, C.A., de Pinho Mixão, V., Novo, M.T., Calado, M.M., Gonçalves, L.A., Belo, S.M., de Almeida, A.P. (2015). First molecular identification of mosquito vectors of *Dirofilaria immitis* in continental Portugal. *Parasit. Vectors* 8, 139

Fortin, J.F., Slocombe, J.O.D. (1981) Temperature requirements for the development of *Dirofilaria immitis* in *Aedes triseriatus* and *Ae. vexans*. *Mosquito News*. 41, 625-633.

Genchi, C., Rinaldi, L., Mortarino, M., Genchi, M., Cringoli, G. (2009). Climate and *Dirofilaria* infection in Europe. In *Vet. Parasitol.* 163, 286–292.

Genchi, C., Bowman, D., Drake, J. (2014). Canine heartworm disease (*Dirofilaria immitis*) in Western Europe: survey of veterinary awareness and perceptions. *Parasit. Vectors* 7, 206.

- Genchi, C., Kramer, L.H., Rivasi, F. (2011). Dirofilarial Infections in Europe. Vector Borne and zoonotic diseases 11, 1307-1317.
- Genchi, C., Rinaldi, L., Cascone, C., Mortarino, M., Cringoli, G. (2005). "Is heartworm disease really spreading in Europe?" In Veterinary Parasitology 133, 137-148
- Gjullin, C.M., Yates, W.W., Stage, H.H. (1950) Studies on *Aedes vexans* (Meig.) and *Aedes sticticus* (Meig.) floodwater mosquitoes in the lower Columbia River Valley. *Ann Entomol Soc Am.* 43,262-275.
- Gomes, B. (2009). *Doenças parasitárias do cão transmitidas por insectos culicídeos e psicodídeos no Funchal e em Barcelona*. Tese de mestrado integrado em Medicina Veterinária. Universidade Técnica de Lisboa.
- Grandi, G., Quintavalla, C., Mavropoulou, A., Genchi, M., Gnudi, G., Bertoni, G., Kramer, L. (2010). A combination of doxycycline and ivermectin is adulticidal in dogs with naturally acquired heartworm disease (*Dirofilaria immitis*). *Vet Parasitol.* 169,347-351.
- Grieve, R.B., Knight, D.H. (1985). Anti-*Dirofilaria immitis* antibody levels before and after anthelmintic treatment of experimentally infected dogs. *J Parasitol.* 71,56-61.
- Guerrero, J. G., McCall, J.W., Genchi, C., Bazzocchi, C., Kramer, L., Simón, F., Martarino, M. (2004) Recent advances in heartworm disease. *Vet Parasitol.* 125,105-130.
- Hirano, Y., Kitagawa, H., Sasaki, Y. (1992) Relationship between pulmonary arterial pressure and pulmonary thromboembolism associated with dead worms in canine heartworm disease. *J Vet Med Sci.* 54,897-904
- Hoskins, J.D., Hribernik, T.N., Kearney, M.T. (1985) Complications following thiacetarsamide sodium therapy in Louisiana dogs with naturally-occurring heartworm disease. *Cornell Vet.* 75,531-539.
- Ishihara, K., Kitagawa, H., Ojima, M., Yagata, Y., Suganuma, Y. (1978). Clinicopathological studies on canine dirofilarial hemoglobinuria. *Jap J Vet Sci.* 40,525-537
- IPMA(2018) Boletim climatológico sazonal- Inverno de 2017/(2018) acedido a maio de 2018 e disponível em : [http://www.ipma.pt/resources.www/docs/im.publicacoes/edicoes.online/20180427/XPfdspXK UcfhpweGBxoZ/cli\\_20180101\\_20180228\\_pcl\\_sz\\_co\\_pt.pdf](http://www.ipma.pt/resources.www/docs/im.publicacoes/edicoes.online/20180427/XPfdspXK UcfhpweGBxoZ/cli_20180101_20180228_pcl_sz_co_pt.pdf)
- IPMA(2018) Boletim climatológico sazonal primavera de 2018, acedido em maio de 2018 e disponível em : [http://www.ipma.pt/resources.www/docs/im.publicacoes/edicoes.online/20180625/EkcKqHdf NomyIJTUthWk/cli\\_20180301\\_20180531\\_pcl\\_sz\\_co\\_pt.pdf](http://www.ipma.pt/resources.www/docs/im.publicacoes/edicoes.online/20180625/EkcKqHdf NomyIJTUthWk/cli_20180301_20180531_pcl_sz_co_pt.pdf)
- Jalali, M. H..R., Alborzi, A. R., Avizeh, R., Mosallanejad, B. (2010). A study on *Dirofilaria immitis* in healthy urban dogs from Ahvaz, Iran. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 11(4), 358-362
- KAN, S.P., Rajah, K.V., Dissanaik, S. (1977). Survey of dirofilariasis among dogs in Seremban, Malaysia. *Veterinary Parasitology* 3, 177-181
- Kartman, L. (1953) Factors influencing infection of the mosquito with *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856). *Exp Parasitol.* 2,27-78.
- Kitagawa, H., Sasaki, Y., Ishihara, K. (1986). Clinical studies on canine dirofilarial hemoglobinuria: relationship between the presence of heartworm mass at the tricuspid valve orifice and plasma hemoglobin concentration. *Jap J Vet Sci.* 48,99-103.

- Knott, J. (1939) A method for making microfilarial surveys on day blood. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 33,191-196.
- Kotani, T., Powers, K.G. (1982). Developmental stages of *Dirofilaria immitis* in the dog. *Am J Vet Res.* 43,2199-2206.
- Kozek, W.J. (1977). Transovarially-transmitted intracellular microorganisms in adult and larval stages of *Brugia malayi*, *J Parasitol* 63,992
- Kramer, L., Grandi, G., Passeri, B., Gianelli, P., Genchi, M., Dzimirski, M.T., Supakorndej, P., Mansour, A.M., Supakorndej, N., McCall, J.D., McCall, J.W. (2011). Evaluation of lung pathology in *Dirofilaria immitis* – Experimentally infected dogs treated with doxycycline or a combination of doxycycline and ivermectin before administration of melarsomine dihydrochloride. *Vet Parasitol.* 176,357-360.
- Kramer, L., Simon, F., Tamarozzi, F., Genchi, M., Bazzocchi, C. (2015a) Is *Wolbachia* complicating the pathological effects of *Dirofilaria immitis* infections? *Vet Parasitol.* 2005a;133(2-3),133-136.
- Kramer, L.H., Tamarozzi, F., Morchón, R., Belmonte, J.L., Atxutegi, C.M., Pacho, R.M., Simón, F. (2005b). Immune response to and tissue localization of the *Wolbachia* surface protein (WSP) in dogs with natural heartworm (*Dirofilaria immitis*) infection. *Vet Immunol Immunopathol.* 106,303-308.
- Landum, M.C (2012). Detecção de dirofilaria spp. em cães da região Centro de Portugal. Tese de mestrado para obtenção do grau de Mestre em Parasitologia Médica.Lisboa. Instituto de Medicina Tropical- Universidade Nova de Lisboa.
- Lee, A.C.Y., Bowman, D.D., Lucio-Forster, A., Beall, M.J., Liotta, J., Dillon, R. (2011). Evaluation of a new in-clinic method for the detection of canine heartworm antigen. *Vet Parasitol.* 177,387-391.
- Leite, L. C., Cirio, S. M., Queiroz, V. S., Silva, M. A., Luz, E., Molinart, H. P., Diniz, J. M. F., Leite, S. C., Lunelli, D., Weber, S. & Zadorosnei. (2006). Dirofilariose Canina: Revisão de uma Zoonose Emergente. *Revista Acadêmica: Ciências Agrárias e Ambientais*, 4(4),49-56.
- Löwenberg-Neto, P., Navarro-Silva, M.A. (2004). Development, longevity, gonotrophic cycle and oviposition of *Aedes albopictus* Skuse (Diptera: Culicidae) under cyclic temperatures. *Neotrop Entomol.* 33,29-33.
- Narine, K., Brennan, B., Gilfillan, I., Hodge, A. (1999). Pulmonary presentation of *Dirofilaria immitis* (Canine heartworm) in man. *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* 16,475-477
- Magnis, J., Lorentz, S., Guardone, L., Grimm, F., Magi, M., Naucke, T.J., Deplazes, P. (2013). Morphometric analyses of canine blood microfilariae isolated by the Knott's test enables *Dirofilaria immitis* and *D. repens* species-specific and *Acanthocheilonema* (syn. *Dipetalonema*) genus-specific diagnosis. *Parasit. Vectors* 6, 48.
- Maia, C., Coimbra, M., Ramos, C., Critóvão, J.M., Cardoso, L. & Campino, L. (2015) Serological investigation of *Leishmania infatum*, *Dirofilaria immitis* and *Angiostrongylus vasorum* in dogs from southern Portugal. *Parasites and vectors*, 152.
- Maia, C., Lorentz, S., Cardoso, L., Otranto, D., Naucke, T.J. (2016). Detection of *Dirofilaria repens* microfilariae in a dog from Portugal. *Parasitol. Res.* 115, 441–443.
- Mañas, F., Ferrer, D., Castella, J., López-Martín, J.M. (2005). Cardiopulmonary helminth parasites of red foxes (*Vulpes vulpes*) in Catalonia, northeastern Spain. *Vet. J.* 169,118–120.

- Marcelino, I.S.S.N. (2015). Estudo sobre Parasitoses Cardiopulmonares e Gastrointestinais em Pinípedes Num contexto Zoológico. Tese de mestrado integrado em medicina veterinária. Lisboa. Faculdade de medicina veterinária - Universidade de Lisboa.
- Marks, C.A., Bloomfield, T.E. (1998). Canine heartworm (*Dirofilaria immitis*) detected in red foxes (*Vulpes vulpes*) in urban Melbourne. *Vet. Parasitol.* 78,147-154.
- Matos, M., Alho, A.M, Owen, S.P., Nunes, T. & Madeira de Carvalho, L.M. (2015) Parasite control practices and public perception of parasitic diseases: A survey of dog and cat owners. *Preventive Veterinary Medicine*, 122.
- Maxwell, E., Ryan, K., Reynolds, C., Pariaut, R. (2014). Outcome of a heartworm treatment protocol in dogs presenting to Louisiana State University from 2008 to 2011: 50 cases. *Vet Parasitol.* 206,71-77.
- Medlock, J.M., Barrass, I., Kerrod, E., Taylor, M.A., Leach, S. (2007). Analysis of climatic predictions for extrinsic incubation of *Dirofilaria* in the United Kingdom. *Vector Borne Zoon. Dis.* 7, 4 –14.
- Menn, B., Lorentz, S., Naucke, T.J. (2010). Imported and travelling dogs as carriers of canine vector-borne pathogens in Germany. *Parasit. Vectors* 3, 34.
- McCall, J.W. (2005). The safety-net story about macrocyclic lactone heartworm preventives: A review, an update, and recommendations. *Vet Parasitol.* 133,197-206
- McCall, J.W., Arther, R., Davis, W., Settje, T. (2014a). Safety and efficacy of 10% imidacloprid + 2.5% moxidectin for the treatment of *Dirofilaria immitis* circulating microfilariae in experimentally infected dogs. *Vet Parasitol.* 206,5-13.
- McCall, J.W., Genchi, C., Kramer, L., Guerrero, J.G., Dzimianski, M.T., Supakorndej, P., Mansour, A.M., McCall, S.D., Supakorndej, N., Grandi, G. (2008a). Heartworm and *Wolbachia*: therapeutic implications. *Vet Parasitol.* 158,204-214.
- McCall, J. W., Genchi, C., Kramer, L. H. & Venco, L. (2008b). Heartworm Disease in Animals and Humans. *Advances in Parasitology* , 66,193-285.
- McCall, J.W., Kramer, L., Genchi, C., Guerrero, J.G., Dzimianski, M.T., Mansour, A., McCall, S.D., Carson, B. (2014b). Effects of doxycycline on heartworm embryogenesis, transmission, circulating microfilaria, and adult worms in microfilaremic dogs. *Vet Parasitol.* 206(1-2),5-13.
- McGreevy, P.B., Theis, J.H, Lavoipierre, M.M., Clark, J. (1974). Studies on filariasis. III. *Dirofilaria immitis*: emergence of infective larvae from the mouthparts of *Aedes aegypti*. *J Helminthol.* 48,221-228.
- McKay ,T., Bianco, T., Rhodes, L., Barnett, S. (2013). Prevalence of *Dirofilaria immitis* (Nematoda: Filarioidea) in mosquitoes from northeast Arkansas, the United States. *J Med Entomol.* 50,871-878.
- McTier, T.L., McCall, J.W., Dzimianski, M.T., Raynaud, J., Strickland, J.E. (1994). Use of melarsomine dihydrochloride (RM 340) for adulticidal treatment of dogs with naturally acquired infections of *Dirofilaria immitis* and for clinical prophylaxis during reexposure for 1 year. *Vet Parasitol.* 55,221-233.
- Mealey, K.L. (2008). Canine *ABCB1* and macrocyclic lactones: Heartworm prevention and pharmacogenetics. *Vet Parasitol.* 158,215-222.
- Montoya-Alonso, J. A., Ferrer, O., Molina, J. & Corbera, J. (1998). The prevalence of *Dirofilaria immitis* in Gran Canaria, Canary Islands, Spain (1994-1996). *Veterinary Parasitology* , 75(2-3), 221-226.



- Montoya-alonso, J.A., Carretón, E.G., Armario, R.B., Morchón, G.R., González, M.J., Simón, M.F. (2012). Evaluación del test comercial URANOTEST DIROFILARIA® para el diagnóstico de la dirofilariosis en gatos. Congreso de Veterinarios de Canarias. 271-272
- Morchón, R., Carretón, E., Gonzalez-Miguel, J., Mellado-Hernández, I. (2012) Heartworm disease (*Dirofilaria immitis*) and Their Vectors in Europe-New Distribution Trends. In *Front Physiol*, 3 196.
- Moreno, Y., Nabhan, J.F., Solomon, J., Mackenzie, C.D., Geary, T. (2010). Ivermectin disrupts the function of the excretory-secretory apparatus in microfilariae of *Brugia malayi*. *Proc Natl Acad Sci USA*. 107, 20120-20125.
- Morgado, G.M. (2016). Parasitoses Internas e frequência de Desparasitação em cães do Concelho de Vila Franca de Xira, Portugal. Tese de mestrado Integrado em Medicina veterinária. Lisboa. Faculdade De Medicina Veterinária, Universidade De Lisboa
- Nelson, R.W., Couto, C.G. (2014). Small Animal Internal Medicine. 5th ED. Missouri. Mosby-Elsevier, 10, 173-189
- Orihel, T.C. (1961). Morphology of the larval stages of *Dirofilaria immitis* in the dog, *J Parasitol* 47, 252
- Ortega-Mora, L.M., Gómez-Bautista, M., Rojo-Vázquez, F., Rodenas, A., and Guerrero, J.A. (1991). Survey of the prevalence of canine filariasis in Spain. *Prev. Vet. Med.* 11, 63–68.
- Otranto, D., Capelli, G. & Genchi, C. (2009). Changing distribution patterns of canine vector borne diseases in Italy: leishmaniosis vs. dirofilariosis. *Parasites & Vectors*, 2(Suppl 1):S2.
- Papazahariadou, M.G., Koutinas, A.F., Rallis, T.S. and Haralabidis, S.T. (1994). Prevalence of microfilariaemia in episodic weakness and clinically normal dogs belonging to hunting breeds. *J. Helminthol.* 68, 243–245.
- Paul AJ, et al. Efficacy of ivermectin against *Dirofilaria immitis* larvae in dogs 30 and 45 days after induced infection. *Am J Vet Res.* 1986, 47:883-884.
- Pereira, A., Martins, A., Brancal, H., Vilhena, H., Silva, P., Pimenta, P., Diz-Lopes, D., Neves, N., Coimbra, M., Alves, A.C., Cardoso, L., Maia, C. (2016) Parasitic zoonoses associated with dogs and cats: a survey of Portuguese pet owners' awareness and deworming practices. *Parasites & Vectors*, 245.
- Pereira, S.R.T (2010) Estudo transversal de Dirofilariose canina na região da Madeira, Portugal. Tese de mestrado em Medicina Veterinária. Porto. Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar -Universidade do Porto.
- Perreira da Fonseca, I. M., Madeira de Carvalho, L. M. & Carvalho-Varela, M. (1991). Prevalência da dirofilariose na população canina portuguesa. I. Detecção de Microfilárias sanguíneas. *Veterinária Técnica Set/Out 1991*, 36-38.
- Petruschke, G., Rossi, L., Genchi, C., and Pollono, F. (2001). Canine dirofilariosis in the canton of Ticino and in the neighboring areas of northern Italy. *Schweiz. Arch. Tierheilkd.* 143, 141–147.
- Polizopoulou, Z.S., Koutinas, A.F., Saridomichelakis, M.N., Patsikas, M.N., Leontidis, L.S., Roubies, N.A. and Desiris, A.K. (2000). Clinical and laboratory observations in 91 dogs infected with *Dirofilaria immitis* in northern Greece. *Vet. Rec.* 146, 466–469.

- Rawlings, C.A., Keith, J.C.J.R., Losonsky, J.M., McCall, J.M.(1984) An aspirin-prednisolone combination to modify postadulthood lung disease in heartworm-infected dogs. *Am J Vet Res.* 45,2371-2375
- Rawlings, C.A., Raynaud, J.P., Lewis, R.E., Duncan, J.R. (1993a). Pulmonary thromboembolism and hypertension after thiacetarsamide vs melarsomine dihydrochloride treatment of *Dirofilaria immitis* infection in dogs. *Am J Vet Res.* 54,920-925.
- Rocha, C. (2010). *Dirofilaria immitis* e *Dirofilariose canina: um estudo retrospectivo*. Tese de mestrado integrado em medicina veterinária. UTAD.
- Rossi, M.I.D., Paiva, J., Bendas, A., Knackfuss, F.B., Miranda, M., Guerrero, J., Fernandes, O., Labarthe, N. (2010) Effects of doxycycline on the endosymbiont *Wolbachia* in *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856) —Naturally infected dogs. *Vet Parasitol.* 174,119-123
- Santa-Ana, M., Khadem, M., Capela, R. (2006). Natural infection of *Culex theileri* (Diptera: Culicidae) with *Dirofilaria immitis* (Nematoda: Filarioidea) on Madeira Island, Portugal. *J Med Entomol.* Jan;43(1),104-6
- Santos, J.P.G.A. (2014) Estudo observacional transversal de parasitas em cães errantes no concelho de Vila Franca de Xira. Tese de Mestrado em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade de Lisboa
- Scaramozzino, P., Gabrielli, S., Di Paolo, M., Sala, M., Scholl, F. & Cancrini, G. (2005). Dog filariosis in the Lazio region (Central Italy): first report on the presence of *Dirofilaria repens*. *BMC Infectious Diseases* , 5,75.
- Segovia, J.M., Torres, J., Miquel, J., Llana, L., Feliu, C. (2001). Helminths in the wolf, *Canis lupus*, from north-western Spain. *J. Helminthol.* 75,183–192.
- Simón, F., López-Belmonte, J., Marcos-Atxutegi, C., Morchón, R. & Martín-Pacho, J. (2005). What is happening outside North America regarding human dirofilariasis?. *Veterinary Parasitology* , 133(2-3),181-189.
- Simón, F., Morchón, R.,González-Miguel, J. & Marcos-Atxutegi, M. (2009). What is new about animal and human dirofilariosis? *Trends in Parasitology* , 25(9), 404-409.
- Simón, F., Siles-Lucas, M., Morchón, R., González-Miguel, J., Mellado, I., Carretón, E., Montoya-Alonso, J.A. (2012). Human and animal Dirofilariosis: the emergence of a zoonotic mosaic. In *Clinical microbiology Review (CMR)*,25(3), 507-544
- Smith, H.L., Rajan, T.V. (2000). Tetracycline inhibits development of the infective stage larvae of filarial nematodes in vitro, *Exp Parasitol* 95,265.
- Song, K.H., Lee, S.E., Hayasaki, M., Shiramizu, K., Kim, D.H., Cho, K.W. (2003). “Seroprevalence of canine dirofilariosis in South Korea” In *Veterinary Parasitology* 114,231-236.
- Taylor, M.A., Coop, R.L. , Wall, R.L. (2016). *Veterinary Parasitology*. (4th Edition). UK :Wiley Blackwell.
- Torgerson, P. R. & Macpherson, C. N. (2011). The socioeconomic burden of parasitic zoonoses: Global trends. *Veterinary Parasitology* , 182,79-95
- Torres, J., Feliu, C., Fernández-Morán, J., Ruíz-Olmo, J., Rosoux, R., Santos-Reis, M., Miquel, J., Fons, R. (2004). Helminth parasites of the Eurasian otter *Lutra lutra* in southwest Europe. *J. Helminthol.* 78, 353–359.

Townson, S., Tagboto, S., McGarry, H.F., Egerton, G.L., Taylor, M. (2006). *Onchocerca* parasites and *Wolbachia* endosymbionts: evaluation of a spectrum of antibiotic types for activity against *Onchocerca gutturosa* in vitro. *Filaria J.* 5:4.

Traversa, D., Aste, G., Milillo, P., Capelli, G., Pampurini, F., Tunesi, C., Santori, D., Paoletti, B. & Boari, A. (2010a). Autochthonous foci of canine and feline infections by *Dirofilaria immitis* and *Dirofilaria repens* in central Italy. *Veterinary Parasitology*, 169(1-2),128–132.

Traversa, D., Di Cesare, A. & Conboy, G. (2010b). Canine and feline cardiopulmonary parasitic nematodes in Europe: emerging and underestimated. *Parasites & Vectors*, 3,62

Urquhart, G.M., Armour, J., Dunn, A.M., Jennings, F.W. (1996). *Veterinary Parasitology*. 2nd ed. Blackwell publishing, Iowa, 88-91.

Vatta, A.F., Dzimianski, M., Storey, B.E., Camus, M.S., Moorhead, A., Kaplan, R.M., Wolstenholme, A. (2014). Ivermectin-dependent attachment of neutrophils and peripheral blood mononuclear cells to *Dirofilaria immitis* microfilariae in vitro. *Vet Parasitol.* 206,38-42.

Velasquez, L., Blagburn, B.L., Duncan-Decoq, R., Johnson, E.M., Allen, K.E., Meinkoth, J., Gruntmeir, J., Little, S.E. (2014). Increased prevalence of *Dirofilaria immitis* antigen in canine samples after heat treatment. *Vet Parasitol.* 206,67-70.

Venco, L., McCall, J.W., Guerrero, J., Genchi, C. (2004). Efficacy of long-term monthly administration of ivermectin on the progress of naturally acquired heartworm infections in dogs. *Vet Parasitol.* 124,259-268.

Vidal, R., Alho, A.M., Rocha, H., Gomes, L., Carneiro, J & Madeira de Carvalho, L.M. (2014) Rastreio nacional de doenças caninas de transmissão vectorial em canídeos militares da Guarda Nacional Republicana. *Veterinary Medicine.* 96, 34-38.

Wang, L.C. (1998). Comparison of a whole-blood agglutination test and an ELISA for the detection of the antigens of *Dirofilaria immitis* in dogs. *Ann Trop Med Parasitol.* 92,73-77.

Yoon, W.K., Choi, R., Lee, S.G., Hyun, C. (2013). Comparison of two retrieval devices for heartworm removal in 52 dogs with heavy worm burden. *J Vet Intern Med.* 27(3),469-473.

## Anexo1

### Inquérito

#### INQUÉRITO AOS PROPRIETÁRIOS DE CÃES E DE GATOS

##### INFORMAÇÕES DO ANIMAL

**Sexo:** ♀ ☐ ♂ ☐ **Idade:** \_\_\_\_\_ **Raça:** \_\_\_\_\_

**Pelo:** C ☐ M ☐ L ☐ **Cão de caça:** Sim ☐ Não ☐

**Localidade** – **Freguesia/Concelho** de **Residência:**

\_\_\_\_\_

**Vive com outros animais:** Sim ☐ Não ☐ **Cães** ☐ **Número:** \_\_\_\_\_

**Gatos** ☐ **Número:** \_\_\_\_\_

**Passa a maior parte do dia:** Dentro de casa ☐ Fora de casa ☐

**Vai a exterior (Rua):** Sim ☐ Não ☐

**Passeia quantas vezes por dia:** 1x/dia ☐ 2x/dia ☐ 3x/dia ☐ 4x/dia ☐

**Passeia:** Manhã ☐ Tarde ☐ Fim de Tarde ☐ Noite ☐

**Passeia:** Pela rua onde mora ☐

Parques/Espaços verdes ☐

Zonas com cursos de água ☐

Outros: \_\_\_\_\_

**Passeia:** Apenas na zona de residência ☐

Noutras zonas do país ☐ Qual(is)? \_\_\_\_\_

**Contacto com animais de fora:** Sim ☐ Não ☐

Cães ☐

Gatos ☐

Outros: \_\_\_\_\_

Todos os dias ☐

1-2x/semana ☐

1-2x/mês ☐

Nunca ☐

## DIROFILARIOSE E HÁBITOS DE DESPARASITAÇÃO

Já ouviu falar de dirofilariose: Sim ☐ Não ☐

Sabe como se transmite: Sim ☐ Não ☐

Desparasita para a dirofilariose: Sim ☐ Não ☐ Desparasitante(s):

\_\_\_\_\_

Uso do desparasitante: Sempre o mesmo produto ☐

Produtos diferentes ☐

Uso de coleira desparasitante: Sim ☐ Não ☐

Quem desparasita: Proprietário ☐

Familiar/Amigo ☐

Médico Veterinário ☐

Última desparasitação para a dirofilariose: \_\_\_\_\_

Frequência da desparasitação: 1 em 1 mês ☐

2 em 2 meses ☐

3 em 3 meses ☐

Iniciativa: Própria/Familiar ☐

Médico Veterinário ☐

Porque desparasita: Prevenção ☐

Tratamento por suspeita ☐

Tratamento pós diagnóstico definitivo ☐

Não sabe/segue MV ☐

Animal já teve/tem dirofilariose: Sim ☐ Não ☐ Não sabe ☐

Diagnóstico: Clínico ☐

Observação de sangue fresco ao microscópio ☐

Teste rápido ☐

Raio-X ☐

Ecocardiografia ☐

Não sabe ☐

**Tratamento:** Tratamento adulticida ☐

Extracção cirúrgica dos adultos ☐

Tratamento sintomático ☐

Tratamento microfilaricida ☐

Não sabe ☐


**Problemas durante o tratamento:** \_\_\_\_\_

**Sabe que é transmissível ao Homem:** Sim ☐ Não ☐

## Anexo2

### Método do Uranoteste Dirofilaria®

# Uranotest Dirofilaria



www.uranovet.com

---

**Especificaciones:**

Finalidad: Detección de antígeno de *Dirofilaria immitis*  
Muestra: Sangre entera, suero, plasma  
Sensibilidad: 94,4 % versus necropsia  
Especificidad: 100 % versus necropsia  
Tiempo de realización: 30 segundos  
Tiempo de lectura: 5 - 10 minutos  
Presentación: Cajas individuales de 1 test/ cajas de 5 tests  
No necesita reactivos  
Tubos con EDTA para la recogida de sangre incluidos  
Nº registro: 1645 RD

**Características:**

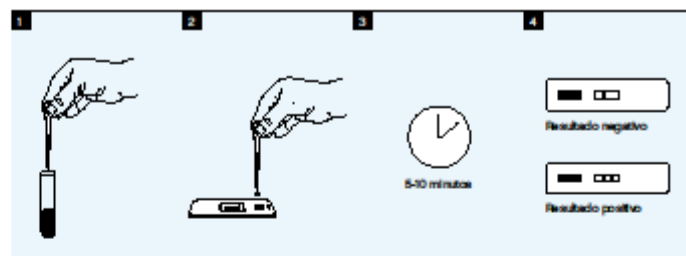
Innovadora técnica de un solo paso:  
2 gotas de muestra son suficientes.  
Sin necesidad de añadir reactivos.  
Ahorro de tiempo, menos errores.

Cassette transparente que facilita la visualización de la técnica.

Detecta parásitos macho y hembra.

Detecta infestaciones con una carga a partir de tan solo 1 parásito adulto de cualquier tipo (machos, hembras adultas, hembras inmaduras, hembras no propagadas).

#### Técnica:



#### Estudio de sensibilidad y especificidad de Uranotest Dirofilaria frente a adultos hembras y machos y formas juveniles:

##### Resultados necropsia

	Estado de la infección	Muestras	Parásitos/perro	Nº muestras positivas testadas con Uranotest Dirofilaria
Negativo		102	0	0
Positivo	Solo formas juveniles	7	1 a 6	4
	Solo gusanos adultos machos	4	1 a 3	4
	Solo gusanos adultos hembras	8	1 a 2	7
	Adultos y formas juveniles machos	6	1-2 gusanos adultos	6
	Adultos y formas juveniles machos	11	Más de 2 gusanos adultos	11
	Adultos y formas juveniles hembras	8	1-2 gusanos adultos	8
	Adultos y formas juveniles hembras	6	Más de 2 gusanos adultos	6
	Adultos y formas juveniles de ambos sexos	12	1-2 gusanos adultos	12
	Adultos y formas juveniles de ambos sexos	10	Más de 2 gusanos adultos	10

Sensibilidad del 94,4 % ( 68/72) y especificidad del 100 % (102/102)